Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
Pest Management Regulatory Agency

PRD2007-05

PROJET DE DÉCISION RÉGLEMENTAIRE

Bacillus subtilis souche MBI 600

(Also available in English)

20 février 2007

Ce document est publié par l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de Santé Canada. Pour de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec :

Publications
Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
Santé Canada
2720, promenade Riverside
IA 6605C
Ottawa (Ontario)
K1A 0K9

Internet : pmra_publications@hc-sc.gc.ca
www.pmra-arla.gc.ca
Télécopieur : 613-736-3758
Service de renseignements :
1-800-267-6315 ou 613-736-3799
pmra_infoserv@hc-sc.gc.ca

Santé Canada Health Canada

Canada

ISBN : 978-0-662-73576-2 (978-0-662-73577-9)
Numéro de catalogue : H113-9/2007-5F (H113-9/2007-5F-PDF)

© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, représentée par le ministre des Travaux publics et des Services gouvernementaux Canada 2007

Tous droits réservés. Il est interdit de reproduire ou de transmettre l'information (ou le contenu de la publication ou produit), sous quelque forme ou par quelque moyen que ce soit, enregistrement sur support magnétique, reproduction électronique, mécanique, ou par photocopie, ou autre, ou de l'emmagasiner dans un système de recouvrement, sans l'autorisation écrite préalable du ministre des Travaux publics et Services gouvernementaux Canada, Ottawa (Ontario) K1A 0S5.

2007-010271

AVANT-PROPOS

Projet de décision pour le *Bacillus subtilis* souche MBI 600

L'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) de Santé Canada, en vertu de la *Loi sur les produits antiparasitaires*, propose l'homologation complète de la matière active de qualité technique *Bacillus subtilis* MBI 600 contenant l'agent microbien de lutte antiparasitaire (AMLA) *B. subtilis* souche MBI 600, du Biofongicide Subtilex[MD] destiné à la fabrication et des préparations commerciales de Pro-Mix (HP, BX, PGX et TA) avec Biofongicide, à des fins de vente et d'utilisation pour la répression de la fonte des semis et de la pourriture des racines causées par des espèces de *Pythium* sur les légumes de serre, y compris sur les plants repiqués et les plantes ornementales.

Le *B. subtilis* souche MBI 600 dans le Pro-Mix avec Biofongicide est un antagoniste biologique qui colonise les systèmes radiculaires en développement et réprime les espèces de *Pythium* par compétition, en utilisant l'espace et les ressources et en produisant une protéine antibiotique ayant une activité antifongique à large spectre. Cet AMLA est présent dans la nature et n'a pas fait l'objet de modification génétique.

Les AMLA sont de plus en plus étudiés comme solutions de rechange aux pesticides traditionnels, car on estime qu'ils posent un risque moindre pour la santé humaine et l'environnement. Le Pro-Mix avec Biofongicide peut être un produit de remplacement biologique aux pesticides chimiques.

Les plus récentes données scientifiques soumises par le demandeur, ainsi que les rapports scientifiques et les renseignements fournis par d'autres organismes de réglementation, ont été évalués pour déterminer si, dans le cadre des conditions d'utilisation proposées, les préparations commerciales ont une valeur et ne posent pas de risques inacceptables pour la santé humaine ou l'environnement.

Le présent Projet de décision réglementaire résume les renseignements évalués, présente les résultats de l'évaluation et décrit les conditions requises pour s'assurer que la valeur de ces produits antiparasitaires, de même que les risques pour la santé humaine et l'environnement, sont acceptables pour l'utilisation prévue. Le document présente également les raisons justifiant la décision d'homologation.

Les renseignements sont présentés en deux volets : l'Aperçu, qui décrit le processus réglementaire et les principaux points de l'évaluation, et l'Évaluation scientifique, qui offre des renseignements techniques détaillés sur la valeur du *B. subtilis* souche MBI 600 et ses effets sur la santé humaine et l'environnement.

L'ARLA acceptera les commentaires écrits concernant ce projet pendant les 45 jours suivant la parution du présent document. Veuillez envoyer tout commentaire aux Publications dont les coordonnées figurent sur la page couverture de ce document.

TABLE DES MATIÈRES

APERÇU 1
Projet de décision concernant l'homologation du Pro-Mix avec Biofongicide 1
Sur quoi se fonde Santé Canada pour prendre sa décision d'homologation? 1
Qu'est-ce que le Pro-Mix avec Biofongicide? 2
Considérations relatives à la santé 3
Considérations environnementales 4
Considérations relatives à la valeur 5
Mesures permettant de réduire les risques 5
Autres renseignements 6

ÉVALUATION SCIENTIFIQUE 7

1.0 La matière active, ses propriétés et ses utilisations 7
1.1 Description de la matière active 7
1.2 Propriétés physico-chimiques de la matière active et des préparations commerciales 8
1.3 Détail des utilisations et autres renseignements 10
1.4 Mode d'action 10

2.0 Méthodes d'analyse 10
2.1 Méthodes d'identification du microorganisme 10
2.2 Méthodes de détermination de la pureté des souches 10
2.3 Méthodes de détermination de la teneur en microorganismes du produit destiné à la fabrication des préparations commerciales 11
2.4 Méthodes de détermination et de quantification des résidus (viables ou non viables) du microorganisme actif et des métabolites pertinents 11
2.5 Méthodes de détermination des impuretés pertinentes dans le produit fabriqué 12
2.6 Méthodes pour démontrer l'absence de bactéries réputées pathogènes pour les humains ou les mammifères 12
2.7 Méthodes pour déterminer la stabilité à l'entreposage et la durée de vie du microorganisme 13

3.0 Effets sur la santé humaine et animale 13
3.1 Résumé de la toxicité et de l'infectiosité 13
3.2 Évaluation de l'exposition professionnelle et occasionnelle et risques connexes 16
3.2.1 Exposition professionnelle 16
3.2.2 Exposition occasionnelle 17
3.3 Évaluation de l'exposition alimentaire et des risques connexe 17
3.3.1 Nourriture 17
3.3.2 Eau potable 17
3.3.3 Risques alimentaires aigus et chroniques pour les sous-populations sensibles 18

3.4 Limites maximales de résidus 18
3.5 Exposition globale 19
3.6 Effets cumulatifs 19

4.0 Effets sur l'environnement 19
4.1 Comportement et devenir dans l'environnement 19
4.2 Effets sur les espèces non ciblées 21
4.2.1 Effets sur les organismes terrestres 21
4.2.2 Effets sur les organismes aquatiques 23

5.0 Valeur 24
5.1 Efficacité contre les organismes nuisibles 24
5.1.1 Allégations d'efficacité acceptables 24
5.2 Phytotoxicité pour les végétaux hôtes 26
5.2.1 Allégations acceptables concernant les végétaux hôtes 26
5.3 Effets sur les cultures subséquentes 26
5.4 Aspects économiques 26
5.5 Durabilité 26
5.5.1 Recensement des produits de remplacement 26
5.5.2 Compatibilité avec les pratiques actuelles de lutte antiparasitaire, y compris la lutte intégrée 27
5.5.3 Renseignements sur l'acquisition, réelle ou potentielle, d'une résistance 27
5.5.4 Contribution à la réduction des risques et à la durabilité 28

6.0 Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques 28

7.0 Résumé 29
7.1 Méthodes d'analyse du microorganisme tel que fabriqué 29
7.2 Santé et sécurité pour les humains 29
7.3 Risque pour l'environnement 30
7.4 Valeur 31

8.0 Décision réglementaire 32

Liste des abréviations 33

Annexe I Tableaux 35
Tableau 1 Toxicité et infectiosité du *Bacillus subtilis* souche MBI 600 et de ses produits connexes (Biofongicide Subtilex[MD] et Pro-Mix avec Biofongicide) 35
Tableau 2 Toxicité pour les espèces non ciblées 40
Tableau 3 Fongicides et biopesticides de remplacement pour la suppression ou la répression des maladies causées par *Pythium* sur les légumes et les plantes ornementales de serre 44

Références 45

APERÇU

Projet de décision concernant l'homologation du Pro-Mix avec Biofongicide

L'ARLA de Santé Canada, en vertu de la *Loi sur les produits antiparasitaires*, propose l'homologation complète du *Bacillus subtilis* MBI 600 Technique contenant l'AMLA *B. subtilis* souche MBI 600, du Biofongicide Subtilex[MD] destiné à la fabrication et des préparations commerciales de Pro-Mix (HP, BX, PGX et TA) avec Biofongicide à des fins de vente et d'utilisation pour la répression de la fonte des semis et de la pourriture des racines causées par les espèces de *Pythium* sur les légumes de serre, y compris sur les plants repiqués et les plantes ornementales.

Les plus récentes données scientifiques soumises par le demandeur, ainsi que les rapports scientifiques et les renseignements fournis par d'autres organismes de réglementation, ont été évalués pour déterminer si, dans le cadre des conditions d'utilisation proposées, les préparations commerciales ont une valeur et ne posent pas de risques inacceptables pour la santé humaine ou l'environnement.

Le présent Projet de décision réglementaire résume les renseignements évalués, expose les résultats de l'évaluation et décrit les conditions requises pour s'assurer que la valeur de ces produits antiparasitaires, de même que les risques pour la santé humaine et l'environnement, sont acceptables dans le cadre de l'utilisation prévue. Le document présente également les raisons qui justifient la décision d'homologation.

Sur quoi se fonde Santé Canada pour prendre sa décision d'homologation?

Le principal objectif de la *Loi sur les produits antiparasitaires* est de faire en sorte que l'utilisation des produits phytosanitaires n'entraîne pas de risques inacceptables pour la population et l'environnement. Les risques pour la santé ou pour l'environnement sont jugés acceptables s'il existe une certitude raisonnable que l'utilisation du produit et l'exposition à celui-ci ne causeront aucun tort à la santé humaine, aux générations futures ou à l'environnement, dans le cadre des conditions d'homologation proposées ou fixées[1]. La *Loi sur*

[1] « Risques acceptables » tels que définis au paragraphe 2(2) de la *Loi sur les produits antiparasitaires* 2002.

les produits antiparasitaires exige aussi que les produits aient une valeur[2] lorsqu'ils sont utilisés conformément au mode d'emploi de l'étiquette. Les conditions d'homologation peuvent inclure l'ajout de mises en garde particulières sur l'étiquette du produit en vue de réduire davantage les risques.

Pour en arriver à une décision, l'ARLA se fonde sur des politiques et des méthodes rigoureuses et modernes d'évaluation des dangers et des risques. Ces méthodes consistent notamment à examiner les caractéristiques uniques de sous-populations chez les humains (p. ex. les enfants) et chez les organismes présents dans l'environnement (p. ex. ceux qui sont les plus sensibles aux contaminants environnementaux). Ces méthodes et ces politiques consistent également à examiner la nature des effets observés et à évaluer les incertitudes associées aux prévisions concernant les répercussions des pesticides. Pour obtenir de plus amples renseignements sur la façon dont l'ARLA réglemente les pesticides, sur le processus d'évaluation et sur les programmes de réduction des risques, veuillez consulter le site Web de l'ARLA à www.pmra-arla.gc.ca.

Qu'est-ce que le Pro-Mix avec Biofongicide?

Les quatre préparations commerciales de Pro-Mix avec Biofongicide (HP, BX, PGX et TA) sont des substrats de culture sans sol à base de tourbe de mousse de sphaigne qui contiennent le pesticide biologique *B. subtilis* souche MBI 600. La bactérie *B. subtilis* souche MBI 600, d'origine naturelle, colonise rapidement les racines des plantes en croissance et produit une protéine antibiotique qui réprime la capacité de croissance des espèces de *Pythium*, les empêchant d'atteindre les conditions nécessaires pour provoquer la fonte des semis ou la pourriture des racines. Destinés aux professionnels, les quatre produits sont formulés selon les différents usages des serriculteurs.

Pro-Mix BX avec Biofongicide est un substrat de culture à base de tourbe, d'usage général, conçu pour la culture d'une grande variété de plantes horticoles, y compris des plants de légumes repiqués.

Pro-Mix HP avec Biofongicide est un substrat de culture à base de tourbe, hautement poreux, conçu pour la culture d'une grande variété de plantes horticoles, y compris pour les cultures hydrosensibles, la propagation de boutures et l'utilisation dans des conditions de faible luminosité.

Pro-Mix PGX avec Biofongicide est un substrat de culture à base de tourbe conçu pour la germination des semences de plantes ornementales et de légumes cultivés en mottes.

---

[2] « Valeur » telle que définie au paragraphe 2(1) de la *Loi sur les produits antiparasitaires* 2002 : « L'apport réel ou potentiel d'un produit dans la lutte antiparasitaire, compte tenu des conditions d'homologation proposées ou fixées, notamment en fonction : a) de son efficacité; b) des conséquences de son utilisation sur l'hôte du parasite sur lequel le produit est destiné à être utilisé; c) des conséquences de son utilisation sur l'économie et la société de même que de ses avantages pour la santé, la sécurité et l'environnement. »

Pro-Mix TA avec Biofongicide est un substrat de culture à base de tourbe, d'usage général, conçu pour la germination et la croissance du tabac, ainsi que d'autres plants repiqués de légumes et de plantes ornementales.

❖ Considérations relatives à la santé

♦ Les utilisations approuvées du Pro-Mix avec Biofongicide peuvent-elles affecter la santé humaine?

Il est peu probable que le *B. subtilis* souche MBI 600 nuise à la santé si le Pro-Mix avec Biofongicide est utilisé conformément au mode d'emploi sur l'étiquette.

L'exposition à la souche MBI 600 de *B. subtilis* peut se produire lors de la manipulation du Pro-Mix avec Biofongicide (substrat de culture sans sol). Au moment d'évaluer les risques pour la santé, plusieurs facteurs clés sont examinés : les propriétés biologiques du microorganisme (c'est-à-dire la production de sous-produits toxiques); les déclarations d'incident; son potentiel pathogène ou toxique tel que déterminé dans les études toxicologiques; et les concentrations probables auxquelles les gens pourraient être exposés à d'autres souches de ce microorganisme déjà observées en nature. Les études toxicologiques chez des animaux de laboratoire décrivent les effets possibles de concentrations élevées du microorganisme sur la santé, dans l'espoir d'identifier toute toxicité ou pathogénicité potentielle. Aucune toxicité significative et aucun signe de pathogénicité n'ont été observés lors de l'exposition d'animaux de laboratoire au *B. subtilis* souche MBI 600.

♦ Résidus dans l'eau et la nourriture

Les risques alimentaires associés à la consommation d'eau et de nourriture ne sont pas préoccupants.

Les souches de *B. subtilis* sont communes dans la nature et l'utilisation du Pro-Mix avec Biofongicide comme substrat de culture des végétaux ne devrait pas accroître de façon significative les concentrations naturelles de ce microorganisme dans l'environnement. Peu de bactéries, s'il en est, devraient persister sous forme de résidus sur les plants au moment de la récolte, puisque le *B. subtilis* souche MBI 600 est présent dans le substrat de culture. Certaines souches de *B. subtilis* ont été isolées d'échantillons d'aliments impliqués dans des empoisonnements alimentaires; cependant ces souches démontraient la capacité de produire une toxine de grande stabilité thermique qui pourrait être similaire à la toxine produite par *Bacillus cereus*, un microorganisme pathogène d'origine alimentaire connu. Selon les rapports, le *B. subtilis* souche MBI 600 ne produit pas cette toxine. De plus, aucun effet de ce genre n'a été signalé pour ce microorganisme aux États-Unis, où il est homologué depuis 1994. En outre, aucune toxicité significative et aucun signe de pathogénicité n'ont été observés lors de l'administration orale du *B. subtilis* souche MBI 600 à des rats. Il n'est donc pas nécessaire de fixer une limite maximale de résidus (LMR) pour le *B. subtilis* souche MBI 600.

La *Loi sur les aliments et drogues* interdit la vente d'aliments falsifiés, c'est-à-dire d'aliments qui contiennent des concentrations résiduelles de pesticide supérieures à la LMR établie. Les LMR pour les pesticides sont fixées, aux fins de la *Loi sur les aliments et drogues*, par l'évaluation des données scientifiques requises en vertu de la *Loi sur les produits antiparasitaires*. Chaque LMR définit la concentration maximale en parties par million (ppm) d'un pesticide permise sur ou dans certains aliments. Les aliments qui contiennent un résidu de pesticide à une concentration qui n'excède pas la LMR établie ne posent pas de risque inacceptable pour la santé. De surcroît, la probabilité de la présence de résidus de *B. subtilis* souche MBI 600 contaminant les sources d'eau potable est négligeable sinon inexistante. Par conséquent, l'exposition alimentaire et les risques connexes sont de minimes à inexistants.

- **Risques professionnels liés à la manipulation du Pro-Mix avec Biofongicide**

Les risques professionnels ne sont pas préoccupants tant que le Pro-Mix avec Biofongicide est utilisé conformément au mode d'emploi et aux mises en garde qui figurent sur l'étiquette.

Les producteurs qui manipulent le Pro-Mix avec Biofongicide peuvent entrer en contact direct avec le *B. subtilis* souche MBI 600 par la peau, les yeux ou par inhalation. Pour cette raison, l'étiquette précisera que les producteurs exposés au Pro-Mix avec Biofongicide doivent porter des gants imperméables, un pantalon long, des chaussettes et des chaussures. Les personnes qui manipulent le produit doivent également porter un masque filtrant la poussière et des lunettes de protection lors de l'ouverture des sacs de produits ou du remplissage des machines à rempoter. De plus, les travailleurs devant retourner sur les lieux peu après la manipulation du produit sec devront respecter un délai de sécurité de quatre heures à moins de porter un équipement de protection individuelle approprié.

Pour ce qui est de l'exposition des tiers, elle devrait être bien inférieure à celle des personnes qui manipulent le produit et les préposés au mélange et au chargement, et on la considère comme étant négligeable. Par conséquent, on estime que l'exposition occasionnelle ne pose pas de risques préoccupants pour la santé.

❖ Considérations environnementales

- **Qu'arrive-t-il quand le Pro-Mix avec Biofongicide se retrouve dans l'environnement?**

Les risques environnementaux ne sont pas préoccupants.

Dans les ouvrages publiés, on fait état d'infections causées par d'autres souches de *B. subtilis* chez des mammifères, des insectes terrestres et des végétaux. Toutefois, ces rapports sont peu nombreux malgré la grande quantité d'ouvrages publiés sur ce microorganisme et concernent des souches inhabituelles, ou bien la pathogénicité de la souche en question de *B. subtilis* n'y a pas été étudiée à fond. Aucun rapport de maladie

associée à *B. subtilis* chez les oiseaux, les lombrics, les abeilles, les invertébrés aquatiques, les algues et les végétaux aquatiques n'a été publié. Le *B. subtilis* n'est généralement pas considéré comme un agent pathogène. Pour cette raison, on s'attend à ce que le risque associé au Pro-Mix avec Biofongicide pour les organismes non ciblés soit négligeable.

❖ Considérations relatives à la valeur

♦ Quelle est la valeur du Pro-Mix avec Biofongicide?

Les quatre préparations commerciales de Pro-Mix avec Biofongicide répriment la fonte des semis et la pourriture des racines des cultures en serre causées par des espèces de *Pythium*. L'utilisation de ces produits comme substrat de semence ou de plantation remplacera le premier traitement fongicide préventif, ce qui permet de réduire le nombre d'applications de fongicides chimiques. Cette réduction du nombre d'applications pourrait diminuer, chez les pathogènes, la possibilité d'acquérir une résistance aux pesticides chimiques traditionnels. Ces quatre préparations commerciales peuvent aussi accroître l'adoption de technologies à risque réduit par les producteurs, car elles sont prêtes à l'emploi, elles ont une longue durée de conservation (jusqu'à 24 mois) et présentent peu de risques pour la santé et l'environnement.

Mesures permettant de réduire les risques

L'étiquette apposée sur tout pesticide homologué comprend un mode d'emploi propre à l'utilisation. On y trouve notamment des mesures de réduction des risques visant à protéger la santé humaine et l'environnement. La Loi exige de suivre à la lettre les modes d'emploi.

Voici les principales mesures de réduction des risques inscrites sur l'étiquette du Pro-Mix avec Biofongicide :

Principales mesures de réduction des risques

- **Santé humaine**

Puisque la toxicité par inhalation et le développement de réactions allergiques chez les utilisateurs soumis à des expositions répétées de *B. subtilis* souche MBI 600 sont des éléments préoccupants, toute personne qui manipule le Pro-Mix avec Biofongicide doit porter des gants imperméables, une chemise à manches longues, un pantalon long, des chaussettes et des chaussures. Les personnes qui manipulent le produit doivent également porter un masque filtrant la poussière ou les gouttelettes lors de l'ouverture des sacs ou du remplissage des machines à rempoter. De plus, les travailleurs devront attendre jusqu'à quatre heures après la manipulation du Pro-Mix avant de retourner sur les lieux, à moins de porter un équipement de protection individuelle approprié.

- **Environnement**

À titre de précaution générale, on demande aux personnes manipulant le produit de ne pas contaminer les sources d'eau potable ou d'irrigation ou les habitats aquatiques en nettoyant l'équipement ou en éliminant les déchets. En outre, les producteurs ne doivent pas permettre que des effluents ou des eaux de ruissellement des serres contenant ce produit entrent dans les lacs, les mares ou d'autres plans d'eau.

Autres renseignements

Le présent document comprend une liste de références énumérant les études et les données soumises par le demandeur, ainsi que les renseignements additionnels examinés par l'ARLA à l'appui à la décision réglementaire proposée. Lors de la prise de décision finale concernant l'homologation, les données d'essais présentées par le demandeur et sur lesquelles se fonde la décision seront mises à la disposition du public, sur demande, dans la salle de lecture de l'ARLA située à Ottawa.

ÉVALUATION SCIENTIFIQUE

Bacillus subtilis souche MBI 600

1.0 La matière active, ses propriétés et ses utilisations

1.1 Description de la matière active

Microorganisme actif	*Bacillus subtilis* souche MBI 600
Utilité	Répression de la fonte des semis et de la pourriture des racines par des espèces de *Pythium* sur les légumes de serre, y compris les plants repiqués et les plantes ornementales
Nomenclature binominale	*Bacillus subtilis* souche MBI 600
Désignation taxinomique	
Royaume	Eubactéries
Règne	Firmicutes
Classe	Bacilles
Ordre	Bacillales
Famille	Bacillaceae
Genre	*Bacillus*
Espèce	*subtilis*
Souche	MBI 600
Renseignements sur l'état des brevets	Brevets canadiens : i. 1324099 Émission : 9 novembre 1993 Expiration : 9 novembre 2010 ii. 1337935 Émission : 16 janvier 1996 Expiration : 16 janvier 2013
Pureté minimale de la matière active	$5{,}5 \times 10^{11}$ spores/g

Microorganisme actif	*Bacillus subtilis* souche MBI 600
Nature des impuretés d'importance toxicologique, environnementale ou autre	La matière active de qualité technique ne contient ni impureté ni microcontaminant figurant sur la liste des substances de la voie 1 de la Politique de gestion des substances toxiques. Dans les ouvrages scientifiques publiés, on mentionne que le *B. subtilis* produit de petits peptides et peptidolipides antibiotiques agissant principalement contre les bactéries Gram positif mais aussi contre les bactéries Gram négatif, les levures et les champignons. On retrouve notamment des peptidolipides intracellulaires (mycosubtiline), des peptidolipides cycliques extracellulaires (facteur *Aspergillus*, bacillomycine A/B/D/F/L/R/S, eumycine, fengycine, iturine A et toximycine) et des peptides cycliques extracellulaires (chaetomacine, fongistatine, mycobacilline et facteur *Rhizoctonia*). On signale une activité hémolytique pour certains peptidolipides. La souche MBI 600 produit aussi une protéine antibiotique de 63 kilodalton dont l'activité a été démontrée contre les bactéries Gram positif et les champignons, mais pour laquelle aucune toxicité chez les mammifères n'a été relevée.

1.2 Propriétés physico-chimiques de la matière active et des préparations commerciales

Produit de qualité technique : *Bacillus subtilis* MBI 600 Technique

Propriété	Résultat
Couleur	Beige blanc
Odeur	Odeur de moisi
État physique	Poudre
Type de formulation	Poudre mouillable
Garantie	$5{,}5 \times 10^{11}$ spores/g
Description du contenant	Contenant en polypropylène de 25 kg
Densité	0,44 g/cm^3
pH d'une dispersion aqueuse à 1 %	4,8
Potentiel oxydant ou réducteur	Aucun
Stabilité à l'entreposage	Sans objet
Explosivité	Sans objet

Produit de fabrication : Biofongicide Subtilex[MD]

Propriété	Résultat
Couleur	Beige blanc
Odeur	Odeur de moisi
État physique	Poudre
Type de formulation	Poudre mouillable
Garantie	$5,5 \times 10^{10}$ spores/g
Description du contenant	Emballage sous vide en polypropylène de 400 g
Densité	0,700 g/cm^3
pH d'une dispersion aqueuse à 1 %	4,8
Potentiel oxydant ou réducteur	Aucune
Stabilité à l'entreposage	16 mois à des températures allant jusqu'à 25 °C
Explosivité	Sans objet

Préparations commerciales : Pro-Mix (BX, HP, PGX et TA) avec Biofongicide

Propriété	Résultat
Couleur	Non déclarée
Odeur	Non déclarée
État physique	Granules solides (substrat de culture à base de tourbe)
Type de formulation	Solide
Garantie	0,001 % *B. subtilis* souche MBI 600 (pas moins de 1×10^7 unités formatrices de colonies (UFC)/L de substrat de culture)
Description du contenant	Sac de 107 L à bourrage lâche et sac de 85 L au contenu comprimé
Densité	0,13 – 0,16 g/cm^3
pH d'une dispersion aqueuse à 1 %	5,0 – 6,2
Potentiel oxydant ou réducteur	Aucun
Stabilité à l'entreposage	24 mois à des températures allant jusqu'à 25 °C

Microorganisme actif	*Bacillus subtilis* souche MBI 600
Nature des impuretés d'importance toxicologique, environnementale ou autre	La matière active de qualité technique ne contient ni impureté ni microcontaminant figurant sur la liste des substances de la voie 1 de la Politique de gestion des substances toxiques. Dans les ouvrages scientifiques publiés, on mentionne que le *B. subtilis* produit de petits peptides et peptidolipides antibiotiques agissant principalement contre les bactéries Gram positif mais aussi contre les bactéries Gram négatif, les levures et les champignons. On retrouve notamment des peptidolipides intracellulaires (mycosubtiline), des peptidolipides cycliques extracellulaires (facteur *Aspergillus*, bacillomycine A/B/D/F/L/R/S, eumycine, fengycine, iturine A et toximycine) et des peptides cycliques extracellulaires (chaetomacine, fongistatine, mycobacilline et facteur *Rhizoctonia*). On signale une activité hémolytique pour certains peptidolipides. La souche MBI 600 produit aussi une protéine antibiotique de 63 kilodalton dont l'activité a été démontrée contre les bactéries Gram positif et les champignons, mais pour laquelle aucune toxicité chez les mammifères n'a été relevée.

1.2 Propriétés physico-chimiques de la matière active et des préparations commerciales

Produit de qualité technique : *Bacillus subtilis* MBI 600 Technique

Propriété	Résultat
Couleur	Beige blanc
Odeur	Odeur de moisi
État physique	Poudre
Type de formulation	Poudre mouillable
Garantie	$5{,}5 \times 10^{11}$ spores/g
Description du contenant	Contenant en polypropylène de 25 kg
Densité	0,44 g/cm^3
pH d'une dispersion aqueuse à 1 %	4,8
Potentiel oxydant ou réducteur	Aucun
Stabilité à l'entreposage	Sans objet
Explosivité	Sans objet

Produit de fabrication : Biofongicide Subtilex[MD]

Propriété	Résultat
Couleur	Beige blanc
Odeur	Odeur de moisi
État physique	Poudre
Type de formulation	Poudre mouillable
Garantie	$5,5 \times 10^{10}$ spores/g
Description du contenant	Emballage sous vide en polypropylène de 400 g
Densité	0,700 g/cm^3
pH d'une dispersion aqueuse à 1 %	4,8
Potentiel oxydant ou réducteur	Aucune
Stabilité à l'entreposage	16 mois à des températures allant jusqu'à 25 °C
Explosivité	Sans objet

Préparations commerciales : Pro-Mix (BX, HP, PGX et TA) avec Biofongicide

Propriété	Résultat
Couleur	Non déclarée
Odeur	Non déclarée
État physique	Granules solides (substrat de culture à base de tourbe)
Type de formulation	Solide
Garantie	0,001 % *B. subtilis* souche MBI 600 (pas moins de 1×10^7 unités formatrices de colonies (UFC)/L de substrat de culture)
Description du contenant	Sac de 107 L à bourrage lâche et sac de 85 L au contenu comprimé
Densité	0,13 – 0,16 g/cm^3
pH d'une dispersion aqueuse à 1 %	5,0 – 6,2
Potentiel oxydant ou réducteur	Aucun
Stabilité à l'entreposage	24 mois à des températures allant jusqu'à 25 °C

Propriété	Résultat
Explosivité	Sans objet

1.3 Détail des utilisations et autres renseignements

Pour une répression efficace de la fonte des semis et de la pourriture des racines causées par *Pythium*, les serriculteurs doivent planter ou transplanter les légumes et les plantes ornementales directement dans le substrat de culture du Pro-Mix avec Biofongicide. Avant de semer ou de transplanter des cultures dans les plateaux, les caissettes ou les pots, il faut ajouter de l'eau au Pro-Mix avec Biofongicide jusqu'à ce que le substrat soit légèrement humide au toucher. On ne doit pas réutiliser le Pro-Mix avec Biofongicide. Il faut éliminer le substrat de culture utilisé de façon à ne pas contaminer les sources d'eau potable ou d'irrigation ou les milieux aquatiques. Les producteurs doivent suivre le mode d'emploi précisé sur les étiquettes.

1.4 Mode d'action

Le *B. subtilis* souche MBI 600 colonise rapidement les racines, s'établissant sans tarder sur les semences et à la surface des racines et de ce fait, il met hors jeu les pathogènes fongiques racinaires potentiels. De plus, la bactérie produit *in situ* une nouvelle protéine antifongique qui réprime la capacité des espèces de *Pythium* de croître et de provoquer la fonte des semis et la pourriture des racines.

2.0 Méthodes d'analyse

2.1 Méthodes d'identification du microorganisme

Trois méthodes sont utilisées pour établir l'identité de l'AMLA. La première méthode consiste en une trousse commerciale appelée API 50 CHB (société bioMérieux, France) permettant d'identifier le microorganisme à l'espèce, *Bacillus subtilis*. Ce test est effectué sur chaque lot de concentré par le laboratoire indépendant MicroBioTest, de Chantilly en Virginie. La deuxième méthode est un simple test d'étalement sur gélose pour confirmer la morphologie de la colonie de l'AMLA. Ce test est fait par le fabricant. La troisième méthode, la chromatographie sur colonne (Sephadex), permet de déterminer le poids moléculaire d'une protéine sécrétée. Le *B. subtilis* souche MBI 600 produit une protéine antibiotique unique dont le poids moléculaire est environ trois fois plus élevé que celui des isolats classiques de *B. subtilis*.

2.2 Méthodes de détermination de la pureté des souches

Le *B. subtilis* souche MBI 600 original est entreposé et maintenu à l'Université de Nottingham, au Royaume-Uni (fournisseur original), et à la American Type Culture Collection, aux États-Unis. Les cultures mères sont également gardées sur les lieux de fabrication, à l'état congelé dans un substrat de croissance 3050 ME4 (soit un substrat de croissance standard pour *B. subtilis*).

Lorsque les cultures mères sont reconstituées, chaque lot est soumis à des tests biochimiques (API 50 CHB; voir la section 2.1) et à une analyse des contaminants microbiens par repiquage sur une gélose trypticase-soya (TSA), une gélose pour dénombrement sur plaque et des plaques de lait écrémé, et étalement de 0,1 millilitre (ml) sur gélose MacConkey (MAC) et plaques de lyse TSA. Seules les cultures montrant des résultats normaux au test API, des morphologies de colonie normales sur les géloses TSA, de dénombrement sur plaque et de lait écrémé et les plaques de lyse TSA, et ne montrant aucune croissance sur les plaques MAC sont considérées comme acceptables pour utilisation à titre de cultures mères.

2.3 Méthodes de détermination de la teneur en microorganismes du produit destiné à la fabrication des préparations commerciales

On évalue régulièrement la concentration d'AMLA dans le *B. subtilis* MBI 600 Technique et le Biofongicide Subtilex[MD] en mettant en culture des échantillons dilués en série sur une gélose nutritive (Oxoid, Royaume-Uni) et en comptant le nombre de colonies présentes après une incubation à 28 – 29 °C pendant 18 à 24 heures. Cette méthode détecte les cellules végétatives et les endospores de *B. subtilis*. La concentration de l'AMLA dans les préparations commerciales de Pro-Mix est évaluée à l'aide d'une autre méthode pour exclure les microorganismes naturellement présents dans le substrat de culture à base de tourbe. Une quantité connue de la préparation commerciale est d'abord homogénéisée dans de l'eau stérile déminéralisée maintenue à 80 °C, puis incubée à 80 °C pendant une période additionnelle de 30 minutes. Après incubation, un échantillon de 5 ml est dilué en série dans de l'eau stérile déminéralisée, puis étalé en spirale sur une gélose nutritive. À la suite d'une incubation à 20 - 27 °C pendant trois à cinq jours, on compte le nombre de colonies sur les plaques. Cette méthode d'essai détecte seulement les endospores de *B. subtilis*.

2.4 Méthodes de détermination et de quantification des résidus (viables ou non viables) du microorganisme actif et des métabolites pertinents

Le *B. subtilis* est un microorganisme omniprésent dans la nature et il a été isolé d'une foule de milieux. Selon la United States Food and Drug Administration (FDA), certaines souches de *B. subtilis* ont été isolées d'échantillons d'aliments impliqués dans des empoisonnements alimentaires. Cependant, ces souches démontraient la capacité de produire une toxine d'une grande stabilité thermique qui pourrait être similaire à la vomitoxine produite par le *B. cereus*, un microorganisme pathogène d'origine alimentaire connu. Selon les rapports, le *B. subtilis* souche MBI 600 ne produit pas cette toxine. De plus, aucun effet de ce genre n'a été signalé pour ce microorganisme aux États-Unis, où il est homologué depuis 1994. En outre, on n'a constaté aucun effet toxique important et aucun effet pathogène chez des rats CD traités par gavage avec une suspension de *B. subtilis* souche MBI 600 à 1 % dans de l'eau distillée, à une dose orale unique de 20 ml/kg poids corporel (p.c.). Après le traitement, les spores du *B. subtilis* ont été récupérées dans les excréments, l'urine et le sang des animaux traités; il n'en subsistait toutefois plus aucune trace au jour 22, soit à la fin de l'étude.

D'après les renseignements ci-dessus, il n'est pas nécessaire de fixer une LMR pour le *B. subtilis* souche MBI 600, en vertu du paragraphe 4*d)* de la *Loi sur les aliments et drogues* (falsification des aliments), tel que défini à l'article B.15.002 du titre 15 du *Règlement sur les aliments et drogues*.

2.5 Méthodes de détermination des impuretés pertinentes dans le produit fabriqué

Pendant la fabrication, plusieurs méthodes sont utilisées pour limiter la contamination microbienne du *B. subtillis* MBI 600 Technique et du Biofongicide Subtilex[MD]. Ces méthodes comprennent l'utilisation de grandes quantités d'inoculat, l'inoculation à des températures élevées, des vérifications fréquentes de la pureté sur gélose, la stérilisation de tous les appareils et substrats, la réduction du pH dans les cas pertinents et l'assainissement du matériel de récupération. Des méthodes différentes sont utilisées pour limiter la contamination microbienne dans le Pro-Mix avec Biofongicide. Ces différences reflètent les exigences uniques de fabrication pour produire des substrats de culture sans sol. Ces méthodes comprennent des vérifications de la pureté sur gélose, l'assainissement des réservoirs et des canalisations utilisés pour appliquer le *B. subtilis* souche MBI 600 sur le substrat de tourbe, de même que des purges avec de la mousse de tourbe pure pour « nettoyer » les systèmes de fabrication et l'équipement d'emballage. La tourbe est ensuite recueillie et recyclée dans d'autres lots. Il n'est pas pratique de tenter d'assainir ou de stériliser la chaîne de production au complet.

Pour s'assurer que les procédures de contrôle de la qualité décrites précédemment limitent les microorganismes contaminants, on teste des échantillons du produit en suivant les procédures microbiologiques normales. Pour le *B. subtilis* MBI 600 Technique et le Biofongicide Subtilex[MD], les échantillons sont repiqués sur des géloses TSA, des géloses pour dénombrement sur plaque et des géloses non azotées, puis étalés sur des plaques de lyse MAC et TSA pour y détecter toute colonie inhabituelle et vérifier la morphologie des colonies. Les échantillons sont aussi testés régulièrement à l'aide de la méthode API 50 CHB, et on y vérifie l'efficacité du Biofongicide Subtilex[MD] contre *Salmonella* et *Shigella*. Pour le Pro-Mix avec Biofongicide, les échantillons de la préparation commerciale font l'objet de tests de détection de la présence d'espèces de *Trichoderma*, de *Fusarium*, de *Pythium*, d'actinomycètes, de spores de *B. subtilis* et de cellules végétatives ou sporales de *B. subtilis* et d'autres bactéries pertinentes, à chaque heure de production (procédé continu de fabrication).

2.6 Méthodes pour démontrer l'absence de bactéries réputées pathogènes pour les humains ou les mammifères

Comme il est indiqué à la section 2.5, plusieurs méthodes sont utilisées pour limiter la contamination microbienne du *B. subtilis* MBI 600 Technique, du Biofongicide Subtilex[MD] et du Pro-Mix avec Biofongicide. Ces procédures comprennent de fréquentes vérifications de la pureté sur divers types de gélose pour détecter la présence de toute colonie inhabituelle et pour vérifier la morphologie des colonies, de même que des essais conçus pour détecter la présence d'espèces de *Salmonella*, de *Shigella*, de *Trichoderma*, de *Fusarium* et de *Pythium*. La plupart de ces méthodes, à l'exception de l'essai *Salmonella-Shigella*, ne permettent pas de distinguer les pathogènes affectant les humains et les mammifères des autres microorganismes contaminants. On n'exigera toutefois pas d'épreuves additionnelles propres à certains microorganismes pour

étayer la demande d'homologation, puisque des dépistages microbiens détaillés n'ont relevé aucune concentration détectable de microorganismes contaminants dans 12 lots de Biofongicide Subtilex[MD] et des concentrations raisonnables de moisissures, de levures et de coliformes dans 20 lots de Pro-Mix BX avec Biofongicide. Il est à souligner que l'on s'attend à ce que le Pro-Mix avec Biofongicide contienne une certaine concentration de microorganismes contaminants, compte tenu de la nature du produit, soit un substrat de culture sans sol à base de tourbe.

2.7 Méthodes pour déterminer la stabilité à l'entreposage et la durée de vie du microorganisme

La stabilité de cinq lots de Biofongicide Subtilex[MD] a été évaluée après 16 mois d'entreposage en laboratoire à environ 25 °C. Les résultats de cette épreuve indiquent que le Biofongicide Subtilex[MD] demeure stable pour une période allant jusqu'à 16 mois. De la même façon, on a évalué la stabilité de cinq lots de Pro-Mix BX avec Biofongicide et des lots simples de cinq substrats différents (formulations BX, PGX, HP, VFT et BRK) entreposés à l'extérieur pour des périodes allant jusqu'à 24 mois. Les résultats de ces épreuves indiquent que le Pro-Mix avec Biofongicide demeure stable pour une période allant jusqu'à 24 mois à des températures extérieures, lorsque le produit est maintenu au sec.

3.0 Effets sur la santé humaine et animale

3.1 Résumé de la toxicité et de l'infectiosité

L'ARLA a examiné en détail la base de données toxicologiques soumise pour le *B. subtilis* souche MBI 600. La base de données est complète; elle est constituée d'études toxicologiques (*in vivo*) sur des animaux de laboratoire (études de pathogénicité et toxicité orale aiguë, pathogénicité et toxicité par inhalation aiguë, toxicité intraveineuse aiguë, irritation et toxicité cutanée aiguë, sensibilisation cutanée et irritation oculaire) actuellement requises aux fins de l'évaluation des risques pour la santé. Ces études ont été effectuées conformément aux protocoles d'expérimentation actuellement acceptés à l'échelle internationale et aux bonnes pratiques de laboratoire. Les demandes d'exemption ont été jugées acceptables en ce qui concerne la toxicité cutanée aiguë et l'irritation cutanée du Pro-Mix avec Biofongicide. La qualité scientifique des données est d'un haut niveau et la base de données est jugée adéquate pour caractériser la toxicité et l'infectiosité de cet agent et produit de lutte antiparasitaire.

La revue des ouvrages publiés a révélé que d'autres souches de *B. subtilis* ont été impliquées dans un certain nombre de cas d'infections chez les humains et ont été identifiées comme l'agent causal d'empoisonnements alimentaires. On a signalé chez des humains des cas de cellulite postopératoire, de septicémie, de maladie respiratoire, d'endocardite et de pneumonie. Dans bon nombre de cas, l'association de *B. subtilis* n'est pas assez forte pour qu'on l'identifie sans équivoque comme l'agent causal. De plus, le nombre d'infections présumées est extrêmement faible si l'on considère le nombre total de déclarations d'infections bactériennes. De ces cas, bon nombre impliquaient des abus de médicaments ou des patients très affaiblis. Comme le *B. subtilis* est virtuellement omniprésent dans l'environnement, on s'attend à le retrouver parfois en association avec d'autres microorganismes dans des cas d'infection. Seules les personnes traitées avec des médicaments immunodépresseurs semblent sensibles à l'infection au

B. subtilis. Pour ce qui est des infections d'origine alimentaire, la FDA des États-Unis a observé que certaines souches de *B. subtilis* avaient été isolées d'aliments impliqués dans des empoisonnements alimentaires. Cependant, ces souches démontraient la capacité de produire une toxine d'une grande stabilité thermique qui pourrait être similaire à la vomitoxine produite par *B. cereus*, un microorganisme pathogène d'origine alimentaire connu. Selon les rapports, le *B. subtilis* souche MBI 600 ne produit pas cette toxine. De plus, aucune maladie de ce genre n'a été signalée pour ce microorganisme aux États-Unis, où il est homologué pour utilisation sur les cultures depuis 1994.

Chez les autres mammifères, le *B. subtilis* a été impliqué dans des cas de mastite bovine et de troubles de la reproduction chez la chèvre. Dans le cas de la mastite bovine, on n'a pas pu exclure le *B. subtilis* comme agent causal. Chez les chèvres présentant des problèmes de reproduction, on a trouvé une corrélation entre des charges bactériennes élevées dans les vagins infectés et des symptômes cliniques. Cependant, le *B. subtilis* isolé des tissus infectés ne s'est pas avéré pathogène pour la souris blanche suisse.

Des rapports mentionnent que le *B. subtilis* produit de petits peptides et peptidolipides antibiotiques agissant principalement contre les bactéries Gram positif, mais aussi contre les bactéries Gram négatif, les levures et les champignons, notamment des peptidolipides intracellulaires (mycosubtiline), des peptidolipides cycliques extracellulaires (facteur *Aspergillus*, bacillomycine A/B/D/F/L/R/S, eumycine, fengycine, iturine A et toximycine) et des peptides cycliques extracellulaires (chaetomacine, fongistatine, mycobacilline et facteur *Rhizoctonia*). On rapporte une activité hémolytique pour certains peptidolipides.

Pour la souche MBI 600, le demandeur a soumis les études suivantes pour étayer sa demande d'homologation :

- une étude de pathogénicité et toxicité orale aiguë;
- une étude de pathogénicité et toxicité par inhalation aiguë;
- une étude d'infectiosité aiguë par voie intraveineuse;
- une étude d'irritation et de toxicité cutanée aiguë;
- une étude d'irritation oculaire.

Dans l'étude de pathogénicité et toxicité orale aiguë, aucune toxicité significative n'a été observée chez des rats CD après l'administration orale par gavage de 2×10^8 spores de *B. subtilis* souche MBI 600. L'AMLA a initialement été détecté dans les excréments, l'urine et le contenu gastro-intestinal des rats traités, et dans le sang des rats traités au jour 7, mais il était complètement éliminé des organes et des fluides au jour 22. Dans l'étude de pathogénicité et toxicité par inhalation aiguë, on a constaté une mortalité importante après le traitement intratrachéal avec la souche MBI 600 à des doses allant de $3,3 \times 10^8$ à $3,7 \times 10^8$ spores viables par animal. Les symptômes cliniques observés étaient les suivants : horripilation, posture courbée, démarche anormale, léthargie, pâleur des extrémités, respiration accélérée, respiration haletante, collapsus, perte de p.c., diminution du gain de p.c., et diminution de la température corporelle. Chez les rats survivants, les spores viables de l'AMLA ont initialement été récupérées dans le caecum, les excréments, l'urine, le sang et d'autres organes. Au jour 7, les spores viables étaient principalement récupérées dans la rate, le cœur et le foie des animaux traités et, au jour 21, c'est uniquement dans les excréments et le caecum des animaux traités que

des spores viables ont été retrouvées. Bien que l'on n'ait pas obtenu de clairance complète, un schéma de clairance bien précis a été déterminé. La toxicité observée dans cette étude est conforme aux résultats d'autres études de toxicité par inhalation aiguë effectuées avec d'autres espèces de *Bacillus*, et elle peut être attribuée aux activités hémolytiques de certains métabolites produits par *B. subtilis*. Pour atténuer les risques d'exposition par inhalation au *B. subtilis* souche MBI 600, les personnes manipulant le produit devront porter un masque antipoussières quand elles sont le plus susceptible d'être exposées au produit par inhalation, c'est-à-dire quand elles ouvrent des sacs ou remplissent les machines à rempotage. Dans l'étude de l'infectiosité par voie intraveineuse, on n'a constaté aucune mortalité et aucun signe clinique de toxicité chez des rats CD après l'injection d'au moins 10^7 spores de *B. subtilis* souche MBI 600 dans une solution physiologique saline. Après le traitement, on a initialement récupéré l'AMLA dans les excréments, l'urine, le sang et divers organes de tous les rats traités. Le nombre de microorganismes diminuait avec le temps et, au jour 21, on a seulement récupéré des spores dans les poumons et la rate des rats traités. Un schéma précis de clairance a pu être établi. Dans l'étude de toxicité cutanée aiguë, on n'a constaté aucune mortalité attribuable au traitement et aucun signe clinique de toxicité, à part un très léger érythème et un très léger œdème chez les lapins traités avec une suspension aqueuse de *B. subtilis* souche MBI 600 à une dose de 2 ml/kg p.c. sur environ 10 % de la surface corporelle. Dans l'étude d'irritation oculaire, on a observé une légère irritation de la conjonctive après l'instillation de 0,1 ml d'une suspension de *B. subtilis* souche MBI 600 dans le sac conjonctival de l'œil droit de lapins néo-zélandais blancs (NZB). Dans l'étude de sensibilisation cutanée, on a constaté que le *B. subtilis* souche MBI 600 induit une réaction de sensibilisation chez les cobayes albinos après deux traitements d'induction avec l'AMLA dans l'eau et dans une solution 50:50 d'adjuvant complet de Freund et d'eau. Il est à souligner que tous les pesticides microbiens sont considérés comme des sensibilisants potentiels peu importe les résultats des études de sensibilisation cutanée. Les énoncés sur l'étiquette indiquent que le Pro-Mix avec Biofongicide est un sensibilisant potentiel, et les mises en garde devront inclure le port d'équipement de protection individuelle et la manipulation judicieuse du produit pour réduire le plus possible l'exposition des travailleurs.

Les demandes d'exemption d'études de toxicité cutanée aiguë et d'irritation cutanée aiguë ont été acceptées pour le Biofongicide Subtilex[MD] et toutes les préparations commerciales de Pro-Mix avec Biofongicide, d'après la nature et les concentrations de chaque ingrédient de formulation. Cependant, le Pro-Mix avec Biofongicide sera considéré comme un faible irritant oculaire d'après la nature de la préparation commerciale, c'est-à-dire un substrat de culture sans sol à base de tourbe, et les énoncés appropriés devront figurer sur l'étiquette.

Des études de toxicité subchroniques et chroniques plus poussées n'ont pas été requises à cause de la faible toxicité aiguë de l'AMLA et l'absence de signes d'infectiosité, de toxicité ou de pathogénicité chez les animaux traités lors des tests d'infectiosité et de toxicité de niveau I par voie orale et par inhalation.

Dans les ouvrages scientifiques disponibles, on ne trouve aucun rapport suggérant que le *B. subtilis* peut causer des effets nocifs sur le système endocrinien des animaux. Les études présentées sur la toxicité et l'infectiosité chez les rongeurs indiquent qu'après exposition par voie orale et par inhalation, le système immunitaire demeure intact et est en mesure de réagir

face à l'AMLA et l'éliminer. D'après le poids de la preuve des données disponibles, on ne prévoit pas d'effet négatif du *B. subtilis* souche MBI 600 sur le système immunitaire.

3.2 Évaluation de l'exposition professionnelle et occasionnelle et risques connexes

3.2.1 Exposition professionnelle

Lorsque le produit est utilisé selon le mode d'emploi de l'étiquette, les principales voies d'exposition au *B. subtilis* souche MBI 600 sont la peau, l'inhalation et, à jusqu'à un certain degré, les yeux.

Les préposés au mélange et au chargement, les personnes qui manipulent le produit et les travailleurs après traitement peuvent être exposés au produit par les voies cutanée et oculaire et par inhalation; la principale source d'exposition des travailleurs est toutefois la voie cutanée. Puisque la peau intacte est une barrière naturelle à l'invasion microbienne du corps humain, l'absorption cutanée pourrait survenir seulement si la peau est coupée, si le microorganisme est un pathogène muni de mécanismes d'entrée ou d'infection de la peau, ou si des métabolites produits peuvent être absorbés par la peau. Le *B. subtilis* n'a pas été identifié comme un pathogène de plaie cutanée et il n'y a pas de signe suggérant qu'il peut pénétrer la peau intacte des personnes en bonne santé.

Il existe un risque de toxicité pour les personnes exposées à de grandes quantités de spores de *B. subtilis* souche MBI600 et on peut s'attendre également à ce que l'exposition répétée au produit provoque le développement d'une hypersensibilité respiratoire. Des énoncés précis sont requis sur l'étiquette de façon à réduire l'exposition aux poussières générées lors de la manipulation du produit sec. L'exposition des personnes qui manipulent le produit et des travailleurs après traitement sera atténuée en imposant un délai de sécurité après traitement et en incluant l'exigence du port d'équipement de protection individuelle, dont un masque antipoussières, sur l'étiquette.

Tous les AMLA sont considérés comme des sensibilisateurs cutanés potentiels, même si d'après les études toxicologiques et les composés de formulation présents dans les préparations commerciales, on ne s'attend à aucune toxicité cutanée ainsi qu'à très peu d'irritation cutanée. Des restrictions et des mesures d'atténuation des risques sont requises sur les étiquettes afin de protéger les populations qui sont susceptibles d'être exposées de façon prépondérante à ces produits. Les personnes qui manipulent le produit et les travailleurs après traitement peuvent réduire le plus possible une telle exposition en portant des gants, une chemise à manches longues, un pantalon long, des chaussettes et des chaussures. L'ARLA suppose que tous les microorganismes contiennent des substances qui peuvent susciter des réactions d'hypersensibilité. D'ailleurs, dans le cadre d'une étude de sensibilisation cutanée, on a constaté que le *B. subtilis* souche MBI 600 était un agent sensibilisant.

Le demandeur n'a pas soumis d'étude sur l'irritation oculaire pour aucune des préparations commerciales. Une étude portant sur une suspension aqueuse de *B. subtilis* souche MBI 600 a montré que l'AMLA causait une irritation minimale; toutefois, la préparation commerciale était considérée comme faiblement irritante d'après la nature de sa formulation, c'est-à-dire un

substrat de culture à base de tourbe. Par conséquent, certaines mises en garde sont requises sur l'étiquette pour protéger les populations susceptibles d'être exposées de façon prépondérante à ces produits. Une telle exposition peut être réduite si les personnes qui manipulent le produit et les travailleurs après traitement portent des lunettes protectrices.

3.2.2 Exposition occasionnelle

D'après le profil de faible toxicité et pathogénicité du *B. subtilis* souche MBI 600, et en supposant que les mises en garde des étiquettes de Pro-Mix avec Biofongicide sont suivies, l'ARLA ne s'attend généralement pas à ce que l'exposition occasionnelle présente un risque inacceptable.

L'étiquette ne permet pas l'application du produit sur les aires gazonnées, résidentielles ou récréatives. Le risque d'exposition cutanée occasionnelle des adultes, des nourrissons ou des enfants est donc faible. Puisque l'utilisation du produit se fait en contexte agricole, l'exposition des nourrissons et des enfants dans les écoles, les résidences et les garderies sera probablement de minime à inexistante. Par conséquent, on s'attend à ce que le risque pour la santé des nourrissons et des enfants soit négligeable.

3.3 Évaluation de l'exposition alimentaire et des risques connexes

3.3.1 Nourriture

Puisque l'AMLA est présent dans le substrat de culture sans sol et n'est pas pulvérisé directement sur les cultures en serre, le profil d'emploi alimentaire proposé est peu probable de donner lieu à de grandes quantités de résidus sur les fruits et les légumes traités, au moment de la récolte. Même si le profil d'emploi proposé pouvait donner lieu à des résidus possibles sur ou dans les denrées agricoles, le risque devrait être de négligeable à nul pour la population générale, y compris pour les nourrissons et les enfants, ou pour les animaux, car le *B. subtilis* souche MBI 600 n'a démontré aucune pathogénicité, infectiosité ou toxicité orale à la dose maximale testée dans l'étude de toxicité et d'infectiosité de niveau I. On ne prévoit pas non plus d'exposition alimentaire aux métabolites secondaires et aux peptides antibiotiques produits par le *B. subtilis* souche MBI 600 compte tenu du profil d'emploi proposé de Pro-Mix avec Biofongicide et des taux de dégradation probables dans le substrat sans sol. En outre, des études sur l'exposition alimentaire subchronique et chronique plus poussées n'ont pas été requises à cause de la faible toxicité de l'AMLA et de l'absence de signe d'infectiosité, de toxicité ou de pathogénicité chez les animaux testés dans les études de toxicité et infectiosité aiguë par voie orale et par inhalation de niveau I. Pour ces motifs, les risques chroniques que représente l'exposition alimentaire pour la population générale et les sous-populations sensibles, comme les nourrissons et les enfants, ne sont pas préoccupants.

3.3.2 Eau potable

Bien qu'il existe une possibilité que le *B. subtilis* souche MBI 600 entre dans les milieux aquatiques adjacents par le biais du ruissellement de surface, et qu'il puisse survivre dans l'eau, on ne prévoit aucun risque d'exposition à ce microorganisme par le biais de l'eau potable, car

l'exposition sera minime, et aucun effet nocif n'a été constaté chez les animaux qui y ont été exposés par voie orale dans le cadre des essais de toxicité et infectiosité aiguë de niveau I. Des énoncés propres au produit devront figurer sur l'étiquette en vue de limiter le ruissellement de surface. L'étiquette du Pro-Mix avec Biofongicide indique aux utilisateurs d'éviter que le produit entre dans des plans d'eau lors de son utilisation ou de son élimination. En outre, le traitement municipal de l'eau potable réduira probablement le transfert des résidus dans l'eau potable. Par conséquent, l'exposition potentielle au *B. subtilis* souche MBI 600 par le biais de l'eau de surface et de l'eau potable est négligeable.

3.3.3 Risques alimentaires aigus et chroniques pour les sous-populations sensibles

Le calcul de la dose aiguë de référence et de la dose journalière admissible n'est habituellement pas possible pour prédire les effets aigus et à long terme des agents microbiens dans la population générale ou dans les sous-populations potentiellement sensibles, particulièrement chez les nourrissons et les enfants. La méthode de la dose unique (danger maximal) pour tester les AMLA est suffisante pour effectuer une évaluation générale raisonnable du risque si aucun effet nocif (c'est-à-dire aucune valeur de référence préoccupante en matière de toxicité, d'infectiosité ou de pathogénicité aiguë) n'est constaté dans les tests de toxicité et d'infectiosité aiguë. D'après tous les renseignements disponibles et toutes les données relatives aux dangers, l'ARLA conclut que le *B. subtilis* souche MBI 600 est de faible toxicité, qu'il n'est ni pathogène ni infectieux pour les mammifères, et que les nourrissons et les enfants ne sont probablement pas plus sensibles à l'AMLA que la population générale. Pour ces motifs, on ne détermine pas d'effets seuils préoccupants et, de ce fait, il n'est pas nécessaire d'effectuer des tests approfondis (doses multiples) ou d'appliquer des facteurs d'incertitude pour tenir compte de la variabilité au sein d'une même espèce et entre les espèces, des facteurs de sécurité ou des marges d'exposition. En outre, pour cet AMLA il n'est pas nécessaire de tenir compte des modèles de consommation des nourrissons et des enfants, ni de la sensibilité particulière de ces sous-populations aux effets de l'AMLA, y compris des effets neurologiques des expositions pré et post-natales, et des effets cumulatifs chez les nourrissons et les enfants de cet AMLA et d'autres microorganismes homologués ayant un mécanisme de toxicité commun. Pour ces motifs, l'ARLA n'a pas utilisé de méthode basée sur la marge d'exposition (sécurité) pour évaluer les risques associés à *B. subtilis* souche MBI 600 pour la santé humaine.

3.4 Limites maximales de résidus

Bien que la FDA des États-Unis ait noté que certaines souches de *B. subtilis* ont été isolées d'aliments impliqués dans des empoisonnements alimentaires, ces souches démontraient la capacité de produire une toxine très stable à la chaleur que l'on n'a pas constatée chez la souche MBI 600 du *B. subtilis*. De plus, aucune maladie de ce genre n'a été signalée pour cet AMLA aux États-Unis, où il est homologué pour usage sur les cultures depuis 1994. En outre, on n'a pas constaté de toxicité significative ni de signe de pathogénicité chez des rats ayant reçu du *B. subtilis* souche MBI 600 par voie orale. Il n'est donc pas nécessaire de fixer une LMR pour le *B. subtilis* souche MBI 600 en vertu du paragraphe 4*d)* de la *Loi sur les aliments et drogues* (falsification des aliments), tel que défini à l'article B.15.002 du titre 15 du *Règlement sur les aliments et drogues*. La *Loi sur les aliments et drogues* interdit la vente d'aliments falsifiés, c'est-à-dire d'aliments qui contiennent une concentration de résidu de pesticide excédant la

LMR établie. Les LMR pour les pesticides sont fixées, aux fins de la *Loi sur les aliments et drogues*, par l'évaluation des données scientifiques requises en vertu de la *Loi sur les produits antiparasitaires*. Chaque LMR définit la concentration maximale en ppm d'un pesticide permise sur ou dans certains aliments. Les aliments qui contiennent un résidu de pesticide à une concentration qui n'excède pas la LMR établie ne posent pas de risque inacceptable pour la santé.

3.5 Exposition globale

D'après les données des tests de toxicité et d'infectiosité soumises par le demandeur et d'autres renseignements pertinents dont dispose l'ARLA, il existe une certitude raisonnable que l'exposition globale aux résidus du *B. subtilis* souche MBI 600 ne posera aucun danger pour la population générale, y compris les nourrissons et les enfants, si l'AMLA est utilisé tel que le prescrit l'étiquette. Cela inclut toutes les expositions alimentaires prévues (aliments et eau potable) et toutes les autres expositions occasionnelles (cutanée et par inhalation) pour lesquelles des données fiables existent. Puisque le produit doit être utilisé dans les serres et n'est pas permis sur les aires gazonnées, résidentielles ou récréatives, l'exposition du public en général, par la voie cutanée ou par inhalation, sera très faible. De plus, on a signalé très peu d'effets nocifs découlant de l'exposition à d'autres souches de *B. subtilis* se retrouvant dans l'environnement. Même s'il y a augmentation de l'exposition à ce microorganisme des suites de l'utilisation du Pro-Mix avec Biofongicide, cela ne devrait pas accroître le risque potentiel pour la santé humaine.

3.6 Effets cumulatifs

L'ARLA a examiné les données disponibles sur les effets cumulatifs de ces résidus et d'autres substances qui ont un mécanisme commun de toxicité, notamment les effets cumulatifs chez les nourrissons et les enfants. Outre les souches de *B. subtilis* naturellement présentes dans l'environnement, l'ARLA ne connaît pas d'autres microorganismes ou d'autres substances ayant un mécanisme de toxicité semblable à celui de cette matière active. On ne prévoit pas d'effets cumulatifs si des résidus de *B. subtilis* souche MBI 600 interagissent avec des souches apparentées à cette espèce microbienne.

4.0 Effets sur l'environnement

4.1 Comportement et devenir dans l'environnement

Le demandeur n'a présenté aucune étude portant sur le comportement et le devenir dans l'environnement du *B. subtilis* souche MBI 600. Les données de devenir dans l'environnement (de niveaux II et III) ne sont pas requises en l'absence d'effets toxicologiques significatifs chez les organismes non ciblés dans les essais de niveau I. Les essais sur le devenir dans l'environnement visent à démontrer si l'AMLA est capable de survivre ou de se répliquer dans le milieu où il est appliqué, ce qui peut fournir des indications sur le type d'organisme non ciblé pouvant y être exposé et l'étendue de cette exposition. Le demandeur a présenté certains renseignements sur le devenir dans l'environnement du *B. subtilis* dans le cadre de l'analyse

documentaire sur le *B. subtilis* et pour étayer ses demandes d'exemption de présentation de données de toxicologie environnementale.

Les espèces de *Bacillus* sont communes dans le sol et dans la litière végétale où elles jouent un rôle important dans le cycle biologique du carbone et de l'azote. D'autres milieux comme l'eau douce, l'eau de mer polluée, les sédiments des grands fonds marins, les aliments, le lait, les produits pharmaceutiques, etc., peuvent avoir acquis des bacilles provenant du sol par le biais du ruissellement, de la poussière et des éléments végétaux colonisés.

Le sol est considéré comme le principal habitat de la majorité des espèces de *Bacillus*. On a isolé *B. subtilis* de différents types de sols provenant de diverses régions, notamment l'Australie, les États-Unis, le Royaume-Uni, l'Égypte, l'Inde et l'Allemagne. On a aussi isolé *B. subtilis* de champs dans lesquels on cultivait des pommes de terre, des vignes et du riz. Dans une forêt de pins du Royaume-Uni, on a trouvé le *B. subtilis* principalement sous forme de cellules végétatives dans l'horizon minéral acide du sol, tandis que dans l'horizon minéral alcalin, il était présent principalement sous forme de spores. Les populations totales de *B. subtilis* dans les horizons minéraux acide et alcalin étaient d'environ 7×10^4 CFU/g de poids sec de sol pour les deux horizons. Ces concentrations représentent approximativement 22 et 13 % de la population bactérienne totale des horizons acide et alcalin, respectivement. La proportion de cellules de *B. subtilis* sous forme de spores dans les horizons acide et alcalin était de 32 et 81 %, respectivement.

On retrouve aussi fréquemment le *B. subtilis* sur et dans les végétaux. Dans une étude portant sur les bactéries présentes sur les semences stérilisées en surface, on a trouvé des bacilles dans quatre espèces de dicotylédones (*Abutilon theophrasti*, *Datura stramonium*, *Ipomoea hederacea* et *Xanthium strumarium*) et dans le soya (*Glycine max*). On n'a pas pu établir de relation directe entre le pourcentage de semences comptant des bactéries et la proportion de semences déterminées comme étant viables pour une espèce en particulier. On a aussi isolé le *Bacillus subtilis* des graines d'autres espèces végétales, comme le piment doux (*Capsicum annuum*) en Tunisie, le soya (*G. max*) aux États-Unis et en Éthiopie et le pois chiche (*Cicer arietinum*) en Éthiopie.

Des souches de *B. subtilis* ont également été isolées de la rhizosphère et des parties aériennes de végétaux. On a isolé des souches de *B. subtilis* de la rhizosphère d'œillets aux États-Unis, de plantules de café (*Coffea arabica*) en Inde, de la rhizosphère du colza en Allemagne et au Royaume-Uni, et de la surface des racines de pommier aux États-Unis. On a également isolé le *B. subtilis* des feuilles de géranium aux États-Unis, de la phyllosphère d'avocat (*Persea americana*) en Afrique du Sud, de blessures foliaires de pommiers au Royaume-Uni, du bois de vigne (*Vitis vinifera*) en Afrique du Sud, de l'érable rouge (*Acer rubrum*) et de l'érable argenté (*Acer saccharinum*) aux États-Unis, et de fruits de citrus (*Citrus reticulutu* et *Citrus sinensis*) en Australie.

Plusieurs études sur la persistance du *B. subtilis* dans le sol ont montré qu'en général les populations des cultures introduites déclinent plus ou moins rapidement après l'introduction dans des sols naturels. Lorsqu'elles sont introduites dans des sols qui contiennent déjà une flore microbienne naturelle, les populations de souches introduites de *B. subtilis* vont

vraisemblablement décliner à 1 % ou moins de la population des souches indigènes de *B. subtilis* que le sol peut soutenir. Les substrats de culture stériles, comme ceux utilisés en horticulture, peuvent soutenir des concentrations plus élevées de souches de *B. subtilis*, mais lorsque de tels substrats sont rejetés en milieu terrestre, la population des souches introduites de *B. subtilis* déclinera probablement aux niveaux observés dans les sols naturels.

Une concentration initiale de $4{,}1 \times 10^5$ cellules végétatives/ml de *B. subtilis* ajoutée à de l'eau de lac non stérile, a rapidement chuté à 8 cellules végétatives/ml après incubation à 30 °C pendant 48 heures. Durant cette période, la densité de spores est demeurée stable à 5 – 8 spores/ml, indiquant que les spores de *Bacillus subtilis* demeurent stables dans l'eau de lac, mais les cellules végétatives n'ont pas réussi à produire des spores dans ces conditions. Des résultats similaires ont été obtenus lors des essais portant sur le *Bacillus subtilis* dans de l'eau de lac stérilisée.

Les études sur la persistance en milieu marin ou estuarien ne sont pas disponibles. Selon bon nombre de rapports, *B. subtilis* a été isolé en milieu marin, ce qui porte à croire qu'il y serait naturellement présent. Le *B. subtilis* a été isolé d'échantillons de sédiments et d'eau de mer et a aussi été trouvé vivant en association avec des éponges, des ascidies et des coraux sans causer d'effets nocifs.

4.2 Effets sur les espèces non ciblées

4.2.1 Effets sur les organismes terrestres

Le demandeur a soumis deux études portant sur les risques de la souche MBI 600 de *B. subtilis* pour les organismes terrestres : une étude de toxicité orale chez les oiseaux et une étude sur les végétaux. Par conséquent, le risque potentiel de *B. subtilis* pour les organismes terrestres a été principalement évalué d'après les rapports publiés dans les ouvrages scientifiques.

Dans le cadre d'une étude de pathogénicité et de toxicité orale aiguë aviaire, trois groupes de Colin de Virginie (*Colinus virginianus*) âgés de 21 jours, apparemment en bonne santé, ont reçu pendant cinq jours, par le jabot ou le proventricule, des doses quotidiennes de *B. subtilis* souche MBI 600 (concentré GUS 378, 30 oiseaux, 4 000 mg/kg p.c./j), de métabolites hydrosolubles de *B. subtilis* souche MBI 600 (10 oiseaux, 240 mg/kg p.c./j) ou de spores lavées de *B. subtilis* souche MBI 600 (10 oiseaux, 3 680 mg/kg p.c./j) dans de l'eau désionisée; on a observé les sujets durant une période totale de 30 jours. Un quatrième groupe (10 oiseaux) a reçu pendant cinq jours 10 ml/kg p.c./j d'eau désionisée, à titre de groupe témoin négatif. En plus, chaque groupe contenait aussi un oiseau non traité servant de contrôle pour l'infectiosité. On n'a relevé aucune mortalité ni aucun signe de toxicité ou de pathogénicité attribuable au traitement pendant toute la durée de l'étude. À l'autopsie, on a constaté qu'une femelle ayant reçu des métabolites hydrosolubles et un mâle ayant reçu la souche MBI 600 de *B. subtilis* présentaient des rates pâles ou hypertrophiées. Ces effets sur la rate peuvent être attribués à la réaction immunologique normale aux corps étrangers, mais ils peuvent aussi être attribués aux effets hémolytiques signalés de certains métabolites hydrosolubles produits par le *B. subtilis* (voir la section 3.1). L'absence d'effet sur la rate chez les oiseaux traités avec des spores lavées de *B. subtilis* souche MBI 600 corrobore la possibilité d'une activité hémolytique, toutefois, puisqu'un seul oiseau a

été affecté dans chaque groupe traité avec le *B. subtilis* souche MBI 600 et les métabolites hydrosolubles de *B. subtilis* MBI 600, la cause exacte de ces effets demeure équivoque. À part cette cause sous-jacente, les effets sur la rate étaient très limités, même en conditions de danger maximal. Par conséquent, on estime que le *B. subtilis* souche MBI 600, les métabolites hydrosolubles de *B. subtilis* MBI 600 et les spores lavées de *B. subtilis* MBI 600 sont faiblement toxiques et ne sont pas pathogènes pour le Colin de Virginie.

Dans le cadre de l'étude de toxicité et de pathogénicité chez les végétaux, des semences de *G. max* cultivar Asgrow A-3427 ont été traitées avec le *B. subtilis* souche MBI 600 à des doses correspondant à 10^7 et 10^5 spores viables par semence. Les semences traitées (50) ont été séchées et puis incubées pendant huit jours à 30, 35 ou 40 °C dans des boîtes de germination Kimpack pour déterminer l'effet du *B. subtilis* souche MBI 600 sur l'apparence des plantules à l'aide d'une clé de classification élaborée par le United States Department of Agriculture. Les semences non traitées et les semences traitées avec de l'eau ont été soumises au même régime, puis mises à germer. Le traitement avec le *B. subtilis* souche MBI 600 n'a eu aucun effet sur le nombre de plantules normales dans les conditions de cette étude. Le seul effet relevé est un effet dépendant de la température, soit une réduction du nombre de plantules normales à 35 °C comparativement à 30 °C, et l'absence de plantules normales à 40 °C dans tous les groupes de traitement. Des références fournies dans le rapport d'étude mettent en cause le *B. subtilis* dans des cas de pourriture des semis de soya. Ces rapports proviennent tous d'un même laboratoire qui ne disposait plus des cultures de *B. subtilis* citées en référence dans les publications originales. Un représentant du laboratoire a indiqué que les cultures en cause étaient probablement l'espèce *Bacillus megaterium* au lieu de l'espèce *B. subtilis*. Cette étude démontre que le *B. subtilis* souche MBI 600 n'était ni pathogène ni toxique pour les semences de *G. max* cultivar Asgrow A-3427.

Le demandeur n'a pas présenté d'autres études portant sur les risques du *B. subtilis* souche MBI 600 pour les mammifères, les insectes terrestres et les invertébrés non-arthropodes non ciblés. Par conséquent, le risque potentiel associé à *B. subtilis* souche MBI 600 pour ces organismes terrestres non ciblés a été évalué d'après les rapports publiés dans les ouvrages scientifiques.

Pour les mammifères, les ouvrages scientifiques publiés contiennent peu de rapports d'effets nocifs. Le *B. subtilis* a été mis en cause dans des cas de mastite bovine et de troubles de la reproduction chez la chèvre. Aucun autre rapport d'effet nocif n'a été publié malgré l'omniprésence de ce microorganisme dans l'environnement. En outre, les études sur des rats de laboratoire soumises en appui à cette demande d'homologation et examinées à la section 3.1 du présent document, indiquent l'absence de pathogénicité pour les rongeurs et peu de toxicité pour la plupart des voies d'exposition aux concentrations représentant un danger maximal, à l'exception de la voie d'exposition par inhalation. La toxicité observée dans cette étude est conforme aux résultats d'autres études par inhalation aiguës effectuées avec d'autres espèces de *Bacillus*. Elle pourrait être attribuée aux activités hémolytiques de certains métabolites produits par le *B. subtilis*. Toutefois, on ne s'attend pas à de tels effets nocifs chez des mammifères non ciblés, d'après le scénario d'exposition relatif à l'utilisation proposée du Pro-Mix avec Biofongicide dans les serres.

Pour les arthropodes terrestres (y compris les abeilles), les résultats publiés d'une étude où des abeilles étaient directement inoculées avec le *B. subtilis* comme vecteur d'un agent biologique permettant d'ouvrir des fleurs de bleuet, ne font état d'aucun effet nocif du bacille. Cependant, cette étude n'avait pas pour but d'évaluer la toxicité, et seuls les effets assez graves pour compromettre les résultats souhaités auraient probablement été signalés. Dans une autre étude publiée, quatre souches de *B. subtilis* ont été isolées de larves de moustiques malades (*Culex* et *Anopheles culicifacies*); toutes les souches ont été trouvées pathogènes pour les larves d'*A. culicifacies*, avec une valeur de concentration létale à 50 % (CL_{50}) aussi faible que $1{,}1 \times 10^3$ spores/ml. On rapporte des résultats similaires pour six espèces de lépidoptères ravageurs du riz alimentées avec les parties pertinentes des plants de riz qui avaient été inoculées avec une suspension bactérienne de *B. subtilis*.

Pour les lombrics et les autres macroorganismes du sol, le demandeur a présenté une étude publiée dans laquelle 20 à 30 nématodes (larves de stade 4 ou jeunes adultes hermaphrodites) de l'espèce *Caenorhabditis elegans* ont été transférés de pelouses contenant l'*Escherichia coli* souche OP50 à des pelouses contenant le *B. subtilis* souche PY79, puis incubés sur une gélose avec infusion cœur-cervelle à 25 °C. On n'a constaté aucune toxicité ou pathogénicité du *B. subtilis*. Par contre, la souche VM 132 du *B. subtilis* a été signalée comme étant un agent de lutte biologique potentiel contre le nématode cécidogène (*Meloidogyne incognita*), parasite de la tomate. Les plants cultivés à partir de semences inoculées montraient un nombre significativement inférieur de galles formées par les nématodes. Cependant, le mode d'action n'a pas été élucidé et la relation pathogène n'a pas été établie. Le *B. subtilis* n'est généralement pas considéré comme un pathogène des invertébrés non-arthropodes.

Pour les autres microorganismes du sol, le demandeur n'a présenté aucune étude portant sur les risques associés à *B. subtilis* souche MBI 600. Les données concernant de tels effets ne sont pas requises, même si le produit vise aussi à lutter contre des microorganismes nuisibles, car puisque le *B. subtilis* est une composante normale du sol, on ne s'attend pas à ce qu'il affecte des espèces de microorganismes d'importance environnementale ou économique ou n'interfère avec des processus biogéochimiques où interviennent des microorganismes.

D'après tous les renseignements disponibles concernant les effets du *B. subtilis* sur les organismes terrestres, on peut être raisonnablement certain que l'utilisation proposée du Pro-Mix avec Biofongicide en tant que substrat de culture sans sol dans les serres ne s'avérera pas dangereuse pour les oiseaux, les mammifères sauvages, les arthropodes, les invertébrés non-arthropodes, les végétaux et les autres microorganismes non ciblés.

4.2.2 Effets sur les organismes aquatiques

Le demandeur n'a soumis qu'une seule étude portant sur les risques associés à *B. subtilis* souche MBI 600 pour les organismes aquatiques, soit une étude sur un poisson dulcicole. Le risque potentiel de *B. subtilis* pour les organismes aquatiques a donc principalement été évalué d'après les rapports publiés dans les ouvrages scientifiques.

Dans l'étude sur la toxicité et l'infectiosité du *B. subtilis* pour le poisson dulcicole, aucun signe de toxicité ou d'infectiosité attribuable au traitement n'a été constaté lorsqu'on a exposé des

groupes de carpes (*Cyprinus carpio*) au *B. subtilis* souche MBI 600 dans l'eau de dilution à des concentrations nominales de $2,0 \times 10^6$ CFU/ml, $2,0 \times 10^7$ CFU/ml et $2,0 \times 10^8$ CFU/ml sous régime statique ou de renouvellement. Les dosages microbiologiques effectués sur l'eau utilisée montrent que l'AMLA demeure stable entre les renouvellements d'eau, probablement sous forme de spores (voir la section 4.1).

L'utilisation du Pro-Mix avec Biofongicide comme substrat de culture sans sol à base de tourbe sera limitée aux serres. Ce profil d'emploi réduit l'exposition directe des organismes aquatiques non ciblés. Bien que le produit ne soit pas destiné à l'application directe sur l'eau, le ruissellement de l'eau de surface provenant du substrat de culture et des plants traités pourrait causer une contamination des écosystèmes aquatiques. Les propriétés biologiques de ce microorganisme donnent à penser que les spores de cet AMLA peuvent survivre dans les écosystèmes aquatiques (voir la section 4.1). Toutefois, malgré l'omniprésence de *B. subtilis* dans la nature, on ne s'attend pas à ce qu'il représente un danger pour les organismes aquatiques d'après l'absence, dans les ouvrages publiés, de constats de maladie ou d'autres effets nocifs associés à ce microorganisme chez des poissons ou d'autres organismes aquatiques. On a même étudié le potentiel probiotique du *B. subtilis* chez bon nombre d'animaux, y compris la dorade royale (*Sparus aurata* L.) et la crevette tigrée (*Panaeus monodon*). Bien que ces études n'aient pas été précisément conçues pour évaluer la toxicité potentielle et la pathogénicité du *B. subtilis*, les résultats ne montrent aucun effet nocif évident.

5.0 Valeur

Pour étayer les allégations de répression de la fonte des semis et de la pourriture des racines par les espèces de *Pythium* sur les légumes et plantes ornementales de serre, le demandeur a présenté des données issues de 36 essais en serre effectués uniquement avec le Pro-Mix BX avec Biofongicide. Il n'a présenté de données pour aucune des trois autres préparations commerciales, soit les Pro-Mix PGX, HP et TA.

5.1 Efficacité contre les organismes nuisibles

5.1.1 Allégations d'efficacité acceptables

5.1.1.1 Répression de la fonte des semis et de la pourriture des racines causées par *Pythium*

Pour corroborer les allégations du projet d'étiquette concernant la répression de la fonte des semis et de la pourriture des racines par des espèces de *Pythium*, trois essais en serre ont été réalisés avec le Pro-Mix BX avec Biofongicide sur chacune des cultures suivantes :

- poivron;
- tomate;
- concombre;
- *Impatiens balsamina*;
- célosie;
- géranium.

Le Pro-Mix BX avec Biofongicide inoculé avec le pathogène visé, *Pythium ultimum*, est efficace contre la pourriture des racines du poivron à 30 - 42 %, sous une pression de pathogène élevée. Ce résultat est semblable ou supérieur au niveau d'efficacité obtenu avec le produit standard commercial Rootshield Drench.

La fonte des semis causée par *P. ultimum* sur les tomates a été évaluée en termes de pourcentage de germination des plantules. Ce dernier a été accru de 48 à 100 % comparativement au témoin négatif (Pro-Mix BX plus *P. ultimum*). Le Pro-Mix BX avec Biofongicide s'est avéré aussi efficace que le Pro-Mix BX avec RootShield Drench pour réprimer la fonte des semis de tomate.

Le Pro-Mix BX avec Biofongicide réduit de 16 à 20 % la pourriture des racines de concombre causée par *P. ultimum*, comparativement au Pro-Mix BX seul.

La fonte des semis et la pourriture des racines causées par *Pythium aphanidermatum* sur les *Impatiens balsamina* ont également fait l'objet d'une évaluation. Aucune différence significative du pourcentage de germination n'a été constatée entre le Pro-Mix BX avec Biofongicide inoculé avec le pathogène visé, *P. aphanidermatum*, et les traitements témoins (Pro-Mix BX plus *P. aphanidermatum* et Pro-Mix BX seul). La pourriture des racines des *I. balsamina* a été réduite de 28 à 68 % en présence du Pro-Mix BX avec Biofongicide, comparativement au Pro-Mix BX seul. Le Pro-Mix BX avec Biofongicide s'est avéré aussi efficace que le Pro-Mix BX avec du RootShield Drench pour réduire les symptômes visibles de pourriture des racines.

Le Pro-Mix BX avec Biofongicide inoculé avec le pathogène visé, *P. ultimum*, a réduit la pourriture des racines de la célosie de 18 à 52 %, comparativement au Pro-Mix BX seul. Le Pro-Mix BX avec Biofongicide s'est avéré aussi efficace que le Pro-Mix BX avec RootShield Drench pour éliminer les symptômes de pourriture des racines.

Dans deux de trois essais sur le géranium, le charbon (pourriture de la tige) causé par *P. ultimum* a été réduit de 33 à 43 % en présence du Pro-Mix BX avec Biofongicide, comparativement au Pro-Mix BX seul. Le Pro-Mix BX avec Biofongicide a eu un effet positif significatif sur la germination des plantules de géranium dans un essai seulement.

Puisque toutes les préparations commerciales de Pro-Mix avec Biofongicide contiennent la même matière active, le *B. subtilis* souche MBI 600, et que l'on ne signale que quelques différences mineures dans les formulations, les allégations de l'étiquette relatives à la répression de la fonte des semis et de la pourriture des racines par *Pythium* sur les cultures en serre sont corroborées pour les quatre préparations commerciales.

5.1.1.2 Mélanges en cuve

Sans objet.

5.2 Phytotoxicité pour les végétaux hôtes

5.2.1 Allégations acceptables concernant les végétaux hôtes

Le Pro-Mix BX avec Biofongicide a été testé à différentes concentrations de matière active, le *B. subtilis* MBI 600, soit à 1× (concentration normale), 2×, 10× et 100×, pour déterminer son effet négatif sur la croissance en évaluant le pourcentage de germination, le poids sec des plantules et la hauteur des plants, de même que les signes visuels de phytotoxicité ou d'effet phytopathogène sur le poivron, la tomate, le concombre, *I. balsamina*, la célosie et le géranium. Le Pro-Mix BX avec Biofongicide n'a eu aucun effet significatif sur la croissance des plants, à aucune des concentrations utilisées, comparativement aux témoins (Pro-Mix BX seul), et on n'a observé aucun signe visible de phytotoxicité ou d'effet phytopathogène. D'après toutes les données soumises, on ne prévoit pas de phytotoxicité, d'effet phytopathogène ou tout autre effet négatif sur la croissance des cultures en serre après l'utilisation de l'une quelconque des quatre préparations commerciales Pro-Mix avec Biofongicide.

5.3 Effets sur les cultures subséquentes

Le demandeur n'a pas soumis de données sur les effets du Pro-Mix avec Biofongicide sur les cultures subséquentes, car le substrat n'est pas réutilisé.

5.4 Aspects économiques

Le demandeur n'a pas fourni d'analyse de marché pour aucune des préparations commerciales. Les productions en serre canadiennes connaissent des pertes annuelles de 15 à 20 % dues à la pourriture des racines et aux maladies foliaires. On estime que les maladies causées par *Pythium* sont à elles seules responsables de pertes de milliards de dollars. La fonte de semis causée par *Pythium* se produit tôt dans le cycle de production, provoquant la pourriture des semences et la mort des plantules avant qu'elles n'émergent du sol, tandis que la pourriture des racines affecte les plants matures. Les infections au *Pythium* causent un mauvais établissement des cultures, un arrêt de la croissance et une diminution du rendement pour une grande variété de cultures en serre.

5.5 Durabilité

5.5.1 Recensement des produits de remplacement

Actuellement, la gestion de la fonte des semis et de la pourriture des racines par *Pythium* sur les légumes et les plantes ornementales de serre passe par l'assainissement et l'hygiène, les pratiques culturales comme la nutrition et la taille, la gestion environnementale dans la serre, l'usage de cultivars relativement tolérants et l'utilisation limitée de fongicides chimiques et biologiques. Des produits comme No-Damp, Previcur N, Maestro 80DF, Ridomil Gold 480EC, Subdue-MAXX, Aliette WDG, Truban, Captan 80W, RootShield Drench WP, RootShield Granules et Mycostop sont homologués au Canada pour la suppression ou la répression de la fonte des semis et de la pourriture des racines des légumes et des plantes ornementales de serre (voir le tableau 3 de l'annexe I) par *Pythium*.

5.5.2 Compatibilité avec les pratiques actuelles de lutte antiparasitaire, y compris la lutte intégrée

Au Canada, peu de produits sont actuellement homologués pour lutter contre les maladies causées par *Pythium* sur les légumes et les plantes ornementales de serre. Même avec ces produits chimiques homologués, la lutte contre les maladies causées par *Pythium* demeure difficile. On incite fortement les producteurs à effectuer une rotation des fongicides disponibles afin de diminuer l'acquisition de résistance dans les populations de pathogènes. Néanmoins, le choix restreint de fongicides disponibles aux serriculteurs peut accroître l'acquisition d'une résistance dans les populations de pathogènes. La résistance aux fongicides propamocarb et mefenoxam a déjà été signalée pour des espèces de *Pythium* en serre. Par conséquent, des produits de remplacement sont requis pour lutter contre les maladies du *Pythium* dans les serres.

Deux biofongicides, RootShield et Mycostop, sont actuellement homologués au Canada pour lutter contre les maladies du *Pythium* dans les serres. L'application préventive de ces produits biologiques diminue la possibilité des pathogènes d'acquérir une résistance aux fongicides chimiques traditionnels. Dans le cadre d'un programme de lutte intégré, le recours au Pro-Mix avec Biofongicide au début du cycle de culture aiderait à éviter l'établissement de la fonte des semis et la pourriture des racines causées par des espèces de *Pythium* et réduirait ainsi le nombre d'applications de fongicide chimique.

Le Pro-Mix avec Biofongicide remplacera la première application préventive de fongicide et pourrait donc réduire la possibilité d'acquisition de résistance des pathogènes aux fongicides chimiques. Les quatre préparations commerciales Pro-Mix avec Biofongicide peuvent aussi potentiellement stimuler l'adoption, par les producteurs, de technologies à risque réduit puisqu'elles sont déjà prêtes à l'emploi, qu'elles ont une longue durée de vie (jusqu'à 24 mois) et qu'elles présentent peu de risques pour la santé humaine et pour l'environnement.

5.5.3 Renseignements sur l'acquisition, réelle ou potentielle, d'une résistance

Il n'y a pas d'information disponible sur l'acquisition d'une résistance au *B. subtilis* souche MBI 600 dans le Pro-Mix avec Biofongicide. Compte tenu de son mode d'action, on ne prévoit pas de résistance au *B. subtilis* souche MBI 600 dans les populations visées. La souche MBI 600 a d'abord été isolée de la microflore naturellement présente sur des feuilles de fève (*Vicia faba*). La souche MBI 600 colonise rapidement les racines, s'établissant sans tarder sur leurs surfaces et ne laissant pas de place aux pathogènes fongiques racinaires potentiels. Une protéine antifongique produite *in situ* par cette bactérie est aussi responsable de la répression des pathogènes des racines. Puisque cette souche de *B. subtilis* a été isolée de la microflore naturelle des feuilles de fève et que le mode d'action contre les espèces de *Pythium* semble être une expulsion par compétition, on peut supposer qu'il y ait peu de risque que des souches dans les populations de *Pythium* acquièrent une résistance.

5.5.4 Contribution à la réduction des risques et à la durabilité

Les quatre préparations commerciales de Pro-Mix avec Biofongicide sont des produits antiparasitaires microbiens dont le mode d'action est basé sur une inhibition compétitive et une exclusion des espèces de *Pythium* sur les semences et les racines des légumes de serre, y compris les plants repiqués et les plantes ornementales de serre. Il s'agit d'un produit non chimique destiné à devenir un produit de remplacement aux fongicides traditionnels pour réprimer la fonte des semis et la pourriture des racines par les espèces de *Pythium*. Comme il s'agit d'un biopesticide microbien, l'ARLA considère que le risque est réduit et que le potentiel de nuire à la santé des Canadiens et à leur environnement est faible.

6.0 Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques

La Politique de gestion des substances toxiques (PGST) du gouvernement fédéral propose une approche prudente et préventive pour gérer les substances qui pénètrent dans l'environnement et qui pourraient nuire à l'environnement ou à la santé humaine. Afin que les programmes fédéraux soient conformes aux objectifs de la PGST, celle-ci fournit une orientation aux décideurs et établit un cadre scientifique de gestion. L'un des principaux objectifs est l'élimination virtuelle de l'environnement des substances toxiques qui résultent principalement de l'activité humaine et qui sont persistantes et biocumulatives. Ces substances sont désignées substances de la voie 1 dans la politique.

Dans le cadre de l'examen du *B. subtilis* souche MBI 600, l'ARLA a tenu compte de la PGST du gouvernement fédéral et a suivi sa directive d'homologation DIR99-03, *Stratégie de l'ARLA concernant la mise en œuvre de la politique de gestion des substances toxiques*. Elle a aussi examiné les substances associées à l'utilisation du *B. subtilis* souche MBI 600, dont les microcontaminants dans le produit de qualité technique, *B. subtilis* MBI 600 Technique, et les composés de formulation dans le produit de fabrication, le Biofongicide Subtilex[MD] et les préparations commerciales Pro-Mix avec Biofongicide. L'ARLA en a conclu que :

- Le *B. subtilis* souche MBI 600 ne répond pas aux critères de la voie 1 car la matière active est un organisme biologique et qu'elle n'est donc pas sujette aux critères utilisés pour définir la persistance, la bioaccumulation et les propriétés toxiques des produits antiparasitaires chimiques. Il n'y a pas non plus de produits de formulations, de contaminants ou d'impuretés présents dans la préparation commerciale qui répondraient aux critères de la voie 1 de la PGST.

- Le *B. subtilis* souche MBI 600 ne contient aucun contaminant préoccupant pour la santé ou l'environnement mentionné dans la *Liste des formulants et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement* publiée dans la *Gazette du Canada*, partie II, volume 139, numéro 24, pages 2 641 à 2 643.

- Le produit de fabrication, le Biofongicide Subtilex[MD], et les préparations commerciales Pro-Mix avec Biofongicide ne contiennent aucun produit de formulation préoccupant pour la santé ou l'environnement mentionné dans la *Liste des formulants et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement* publiée dans la *Gazette du Canada,* partie II, volume 139, numéro 24, pages 2 641 à 2 643.

Par conséquent, on ne s'attend pas à ce que l'utilisation du Pro-Mix avec Biofongicide donne lieu à l'introduction de substances de la voie 1 dans l'environnement.

7.0 Résumé

7.1 Méthodes d'analyse du microorganisme tel que fabriqué

Les données de caractérisation présentées pour le *B. subtilis* souche MBI 600 (*B. subtilis* MBI 600 Technique), le Biofongicide Subtilex[MD] et le Pro-Mix avec Biofongicide sont adéquates pour évaluer leur sécurité pour la santé humaine. Le produit de qualité technique a été pleinement caractérisé, et les spécifications sont corroborées par l'analyse d'un nombre suffisant de lots. Bien qu'il n'y ait pas de dépistage microbien propre à des pathogènes précis dans les procédures de contrôle de la qualité, l'absence de microorganismes contaminants dans un grand nombre de lots représentatifs montre que le programme d'assurance de la qualité du fabricant est efficace pour limiter les microorganismes contaminants. Il n'est donc pas nécessaire de faire des essais additionnels propres à certains microorganismes pour assurer la sécurité.

Les données sur la stabilité à l'entreposage étaient suffisantes pour corroborer la date de péremption de 16 mois du Biofongicide Subtilex[MD] lorsque les produits sont entreposés à des températures n'excédant pas 25 °C et la date de péremption de 24 mois pour le Pro-Mix avec Biofongicide lorsqu'il est entreposé à des températures extérieures et gardé au sec.

7.2 Santé et sécurité pour les humains

Les études sur la toxicité et l'infectiosité aiguës présentées à l'appui de *B. subtilis* souche MBI 600 sont jugées assez complètes pour rendre une décision concernant son homologation. Le *B. subtilis* souche MBI 600 est faiblement toxique chez le rat lorsqu'administré par voie orale ou cutanée. On a observé une toxicité significative de l'AMLA par inhalation, mais aucune toxicité par voie intraveineuse. Le *B. subtilis* souche MBI 600 ne s'est révélé ni pathogène ni infectieux par voies orale et intraveineuse et par inhalation. On a constaté une légère irritation cutanée dans l'étude de toxicité cutanée et une légère irritation oculaire dans l'étude sur l'irritation oculaire. Le demandeur a soumis des demandes d'exemption pour toutes les études de toxicologie (toxicité cutanée aiguë et irritation cutanée) pour le Biofongicide Subtilex[MD] et le Pro-Mix avec Biofongicide. Ces demandes d'exemption ont été acceptées d'après la nature et la concentration des ingrédients de formulation.

On a déterminé que le *B. subtilis* était un agent de sensibilisation cutanée. Tous les pesticides microbiens sont considérés comme des sensibilisants potentiels. L'exposition répétée à des allergènes, y compris au *B. subtilis* souche MBI 600, peut provoquer des allergies. Il est donc

nécessaire d'inclure les mots indicateurs « SENSIBILISANT POTENTIEL » sur les principales aires d'affichage de toutes les étiquettes, soit celles du *B. subtilis* MBI 600 Technique, du Biofongicide Subtilex[MD] et du Pro-Mix avec Biofongicide. Le demandeur n'a pas présenté d'études sur l'irritation oculaire pour le Biofongicide Subtilex[MD] ou le Pro-Mix avec Biofongicide. Puisque la formulation du Biofongicide Subtilex[MD] est similaire à celle du *B. subtilis* MBI 600 Technique, aucun autre mot indicateur n'est nécessaire pour ce produit. Toutefois, pour toutes les formulations de Pro-Mix avec Biofongicide, il est nécessaire d'ajouter les mots indicateurs « ATTENTION IRRITANT POUR LES YEUX » sur les aires principales d'affichage, car leur formulation, soit un substrat de culture à base de tourbe, est considérée comme un léger irritant oculaire.

Lorsque le produit est manipulé selon le mode d'emploi de l'étiquette, les préposés au mélange et au chargement, les personnes qui manipulent le produit et les autres travailleurs après traitement peuvent être exposés au produit par inhalation, la peau et les yeux. Bien que les études présentées sur le *B. subtilis* souche MBI 600 indiquent une toxicité potentielle par inhalation, l'exposition par inhalation n'est pas préoccupante si les préposés au mélange et au chargement, les personnes qui manipulent le produit et les autres travailleurs après traitement portent un masque antipoussières. Pour réduire le risque des travailleurs, l'utilisation de l'équipement de protection individuelle sera stipulée sur les étiquettes des préparations commerciales, de même qu'un délai de sécurité de quatre heures. L'étiquette ne permet pas l'application sur les aires gazonnées, résidentielles ou récréatives. Puisque l'utilisation du produit se fait en contexte agricole, l'exposition des nourrissons et des enfants dans les écoles, les résidences et les garderies sera probablement de minime à inexistante. Par conséquent, on s'attend à ce que le risque pour la santé des nourrissons et des enfants soit négligeable.

Bien que certaines souches de *B. subtilis* aient été isolées d'aliments impliqués dans des empoisonnements alimentaires, aucune maladie de ce genre n'a été signalée pour cet AMLA aux États-Unis, où il est homologué pour usage sur les cultures depuis 1994. De plus, on n'a pas constaté de toxicité significative ou de signe de pathogénicité chez des rats ayant reçu du *B. subtilis* souche MBI 600 par voie orale. Il n'est donc pas nécessaire de fixer une LMR pour le *B. subtilis* souche MBI 600 en vertu du paragraphe 4*d)* de la *Loi sur les aliments et drogues* (falsification des aliments), tel que défini à l'article B.15.002 du titre 15 du *Règlement sur les aliments et drogues*.

7.3 Risque pour l'environnement

Les études non ciblées et les publications scientifiques présentées en appui à la demande d'homologation du *B. subtilis* souche MBI 600 ont été jugées comme étant suffisamment complètes pour permettre de rendre une décision réglementaire.

Le demandeur n'a pas présenté d'études portant sur le comportement et le devenir dans l'environnement du *B. subtilis* souche MBI 600. Les données sur le devenir dans l'environnement (de niveaux II et III) ne sont pas requises en l'absence d'effets toxicologiques significatifs chez les organismes non ciblés dans les essais de niveau I.

Trois études sur les effets environnementaux ont été présentées pour traiter des risques associés au *B. subtilis* souche MBI 600 pour les organismes non ciblés. Ces études montrent que le *B. subtilis* souche MBI 600 n'est ni toxique ni pathogène pour les oiseaux, les poissons dulcicoles et les graines de végétaux terrestres. Les risques pour les autres groupes d'organismes non ciblés, soit les mammifères, les insectes terrestres, les invertébrés non-arthropodes, les poissons estuariens et marins et les végétaux aquatiques, ont été évalués d'après des études et des rapports scientifiques publiés. Dans ces documents, on attribue peu d'effets nocifs au *B. subtilis* chez les mammifères, les insectes terrestres et les invertébrés non-arthropodes. Ces rapports sont toutefois peu nombreux, malgré l'omniprésence de ce microorganisme dans l'environnement et le fait que, dans la plupart des cas, l'implication des souches choisies de *B. subtilis* n'a pas été étudiée en profondeur. De plus, on ne signale aucun effet nocif chez les organismes aquatiques.

L'utilisation du Pro-Mix avec Biofongicide, sous forme de substrat de culture sans sol à base de tourbe, sera limitée aux serres. Ce profil d'emploi réduit l'exposition directe des organismes non ciblés. Bien que le produit ne soit pas destiné à l'application directe sur l'eau, le ruissellement de l'eau de surface provenant du substrat de culture et des plants traités peut causer une contamination des écosystèmes aquatiques. Les propriétés biologiques de cette espèce donnent à penser que les spores de cet AMLA peuvent survivre dans les écosystèmes aquatiques. Toutefois, on ne s'attend pas à ce que cela pose un danger pour les organismes aquatiques, compte tenu de l'absence de maladie ou d'autre effet nocif chez les poissons ou autres organismes aquatiques. De même, on ne prévoit aucun danger pour les organismes terrestres compte tenu du petit nombre d'effets nocifs rapportés dans les ouvrages publiés et de l'exposition potentielle limitée lorsque le produit est utilisé conformément au profil d'emploi proposé.

7.4 Valeur

L'allégation de répression de la fonte des semis et de la pourriture des racines par des espèces de *Pythium* sur le tabac, les légumes de serre, y compris les plants repiqués et les plantes ornementales, cultivés sur du Pro-Mix avec Biofongicide est acceptée. Les produits Pro-Mix avec Biofongicide devraient être utilisés en association avec d'autres produits homologués dans le cadre d'un programme de lutte intégrée contre la fonte des semis et la pourriture des racines causées par *Pythium*.

8.0 Décision réglementaire

L'ARLA de Santé Canada, en vertu de la LPA, propose l'homologation complète de la matière active de qualité technique *Bacillus subtilis* MBI 600 Technique, du Biofongicide Subtilex[MD] destiné à la fabrication et des préparations commerciales de Pro-Mix avec Biofongicide, pour la vente et l'utilisation en vue de réprimer la fonte des semis et la pourriture des racines causées par les espèces de *Pythium* sur les légumes de serre, y compris sur les plants repiqués et les plantes ornementales. Les plus récentes données scientifiques présentées par le demandeur, ainsi que les rapports scientifiques et les renseignements fournis par d'autres organismes de réglementation, ont été évalués pour déterminer si, dans le cadre des conditions d'utilisation proposées, la préparation commerciale a une valeur sans poser de risques inacceptables pour la santé humaine ou l'environnement.

Liste des abréviations

♀	femelle
♂	mâle
°C	degré Celsius
AMLA	agent microbien de lutte antiparasitaire
ARLA	Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
CE_{50}	concentration entraînant un effet à 50 %
CFU/g	unité formatrice de colonies par gramme
CL_{50}	concentration létale à 50 %
cm^3	centimètre cube
CMM	cote moyenne maximale
CSEO	concentration sans effet observé
DL_{50}	dose létale à 50 %
FDA	*Food and Drugs Act* (États-Unis)
g	gramme
h	heure
IMI	indice maximum d'irritation
j	jour
kg	kilogramme
L	litre
LMR	limite maximale de résidus
MAC	gélose de MacConkey
ml	millilitre
NZB	néo-zélandais blanc
p.c.	poids corporel
PGST	Politique de gestion des substances toxiques
ppm	parties par million
TSA	gélose trypticase-soya

Annexe I Tableaux

Tableau 1 Toxicité et infectiosité du *Bacillus subtilis* souche MBI 600 et de ses produits connexes (Biofongicide Subtilex[MD] et Pro-Mix avec Biofongicide)

Type d'étude	Espèces, souche et doses	Résultats	Effets significatifs et commentaires	Référence
Toxicité aiguë et infectiosité - *Bacillus subtilis* MBI 600 Technique				
Toxicité orale aiguë et infectiosité	Rat CD 11/sexe traités avec l'AMLA, suspension de 1 % dans de l'eau distillée stérile, 20 ml/kg p.c. (équivalant à $1,9 \times 10^8$ - $2,7 \times 10^8$ CFU/animal), sacrifices intermédiaires (2/sexe) aux j 2, 8 et 15 5/sexe traités avec l'AMLA autoclavé, suspension de 1 % dans de l'eau distillée stérile, 20 ml/kg p.c.	$DL_{50} > \sim 2 \times 10^8$ CFU/animal	Aucune mortalité et aucune anomalie à l'autopsie. Légère diminution du gain de p.c. observée au j 15 chez 2 ♂ traités avec l'AMLA et au j 22 chez 1 ♀ traitée avec l'AMLA autoclavé. Récupération initiale de l'AMLA dans les excréments, l'urine et le contenu gastro-intestinal (estomac, intestin grêle et cæcum) des rats traités; au j 7, récupération dans le sang des rats traités; au j 22, clairance complète de l'AMLA de tous les organes et fluides corporels. **FAIBLE TOXICITÉ, NON INFECTIEUX**	PMRA 1099781

Annexe I Tableaux

Tableau 1 Toxicité et infectiosité du *Bacillus subtilis* souche MBI 600 et de ses produits connexes (Biofongicide Subtilex[MD] et Pro-Mix avec Biofongicide)

Type d'étude	Espèces, souche et doses	Résultats	Effets significatifs et commentaires	Référence
Toxicité aiguë et infectiosité : *Bacillus subtilis* MBI 600 Technique				
Toxicité orale aiguë et infectiosité	Rat CD 11/sexe traités avec l'AMLA, suspension de 1 % dans de l'eau distillée stérile, 20 ml/kg p.c. (équivalant à $1,9 \times 10^8$ - $2,7 \times 10^8$ CFU/animal), sacrifices intermédiaires (2/sexe) aux j 2, 8 et 15 5/sexe traités avec l'AMLA autoclavé, suspension de 1 % dans de l'eau distillée stérile, 20 ml/kg p.c.	$DL_{50} > \sim 2 \times 10^8$ CFU/animal	Aucune mortalité et aucune anomalie à l'autopsie. Légère diminution du gain de p.c. observée au j 15 chez 2 ♂ traités avec l'AMLA et au j 22 chez 1 ♀ traitée avec l'AMLA autoclavé. Récupération initiale de l'AMLA dans les excréments, l'urine et le contenu gastro-intestinal (estomac, intestin grêle et cæcum) des rats traités; au j 7, récupération dans le sang des rats traités; au j 22, clairance complète de l'AMLA de tous les organes et fluides corporels. **FAIBLE TOXICITÉ, NON INFECTIEUX**	PMRA 1099781

Type d'étude	Espèces, souche et doses	Résultats	Effets significatifs et commentaires	Référence
Toxicité par inhalation aiguë et infectiosité	Rat CD 16 ♀ et 15 ♂ traités avec l'AMLA, suspension de 1 % dans de l'eau distillée stérile, 1,2 ml/kg p.c. (équivalant à $3,3 \times 10^8$ - $3,7 \times 10^8$ CFU/animal), sacrifices intermédiaires (2/sexe) aux j 1, 2, 8 et 15 5/sexe traités avec l'AMLA autoclavé, suspension de 1 % dans de l'eau distillée stérile, 1,2 ml/kg p.c.	$CL_{50} > \sim 3,5 \times 10^8$ CFU/animal	Trois animaux morts au j 2, 2 au j 3, et 1 au j 4. Horripilation, posture courbée, démarche anormale, léthargie, pâleur des extrémités, respiration accélérée, collapsus, respiration haletante observés chez de nombreux rats traités avec l'AMLA et l'AMLA autoclavé. Perte de p.c. observée chez tous les animaux trouvés morts; pertes de p.c. ou faibles gains de p.c. observés chez des animaux traités avec l'AMLA et l'AMLA autoclavé. Récupération initiale de l'AMLA dans le cæcum, les excréments, l'urine, le sang et divers organes des animaux traités; au j 7, récupération de spores viables principalement dans la rate, le cœur et le foie des rats traités; au j 21, récupération des spores uniquement dans les excréments et le cæcum des rats traités. Enregistrement d'une diminution de température corporelle de 3 - 4 °C chez tous les rats ayant reçu l'AMLA ou l'AMLA autoclavé. Après 24 h, les températures corporelles étaient revenues à des niveaux normaux. Aucun signe macroscopique observé à l'autopsie. **TOXIQUE, NON INFECTIEUX**	PMRA 1099782

Type d'étude	Espèces, souche et doses	Résultats	Effets significatifs et commentaires	Référence
Infectiosité intraveineuse	Rat CD 16/sexe traités avec l'AMLA, suspension de 1 % dans une solution physiologique saline, 3 ml/kg p.c. (équivalant à $3,3 \times 10^8$ - $3,7 \times 10^8$ CFU/animal), sacrifices intermédiaires (2/sexe) aux j 1, 2, 8 et 15 5/sexe traités avec l'AMLA autoclavé, suspension de 1 % dans une solution physiologique saline, 3 ml/kg p.c.		Aucun signe clinique de toxicité attribuable au traitement et aucune anomalie observée à l'autopsie. Diminution des températures corporelles de ~3 °C chez les rats traités avec l'AMLA après 24 h. Récupération de l'AMLA des excréments, de l'urine, du sang et de divers organes (principalement le foie et la rate) après traitement, la quantité retrouvée diminuant au cours de la période d'étude. Au j 22, récupération de l'AMLA dans le foie et la rate seulement. **NON INFECTIEUX**	PMRA 1099726
Toxicité cutanée aiguë et irritation	Lapin NZB 5/sexe traités avec une suspension d'AMLA non dilué, 2 ml/kg p.c. (équivalant à $2,0 \times 10^{10}$ CFU/kg p.c.) appliqué sur environ 10 % de la surface corporelle, pendant 24 h	$DL_{50} > 2$ ml/kg p.c.	Un ♂ est mort, mais cette mortalité n'était pas liée au traitement. Observation d'un très léger érythème (stade 1) ou d'un très léger œdème (stade 1) aux sites de traitement chez les animaux survivants lors du retrait du timbre. Toute l'irritation avait disparu au j 3, soit 24 h après le retrait du timbre. **MINIMALEMENT IRRITANT; FAIBLE TOXICITÉ**	PMRA 1099727

Type d'étude	Espèces, souche et doses	Résultats	Effets significatifs et commentaires	Référence
Sensibilisation cutanée	Cobaye albinos Induction : 10/sexe, injections intradermiques avec 0,1 ml a) d'adjuvant complet de Freund dilué dans un volume égal d'eau; b) de 5 % d'AMLA dans de l'eau; c) de 5 % d'AMLA dans un mélange 50:50 d'adjuvant complet de Freund et d'eau. Après 1 semaine, application topique avec 0,4 ml d'AMLA en suspension pendant 48 h. Provocation : Applications topiques de 0,2 ml d'AMLA non dilué et d'un mélange 50:50 d'AMLA et d'eau distillée sur des sites naïfs	SENSIBILISANT	24 h après le test de provocation, la plupart des animaux manifestaient un érythème et un œdème définis (stade 2) (provocation avec AMLA à 100 %) et 14 animaux sur 20 ayant reçu le mélange 50:50 d'AMLA et d'eau avaient des réactions similaires. Érythème de modéré à grave (stade 3) chez 7 animaux sur 20 après 48 h et chez 8 animaux sur 20 après 72 h. Plus de la moitié des animaux présentaient un œdème de modéré (stade 3) à grave (stade 4) à 48 h et 72 h respectivement. Nécrose, plaques ou bordures nécrotiques observées chez 12 animaux sur 20 à 48 h et chez 6 animaux sur 20 à 72 h.	PMRA 1099729
Irritation oculaire primaire	Lapin NZB 6 ♀ instillées avec 0,1 ml d'une suspension d'AMLA (équivalant à 1×10^9 CFU/œil), dans le sac conjonctival de l'œil droit	CMM[1] = 4,6/110 (24, 48 et 72 h) IMI[2] = 6/110 (24 h)	Après 1 h : légère rougeur de la conjonctive (stade 1) constatée. Après 24 h : chémosis constaté (stade 1). Irritation disparue au j 4. **MINIMALEMENT IRRITANT**	PMRA 1099731

Type d'étude	Espèces, souche et doses	Résultats	Effets significatifs et commentaires	Référence
Toxicité aiguë et irritation : Pro- Mix (HP, BX, PGX et TA) avec Biologicide				
Tous les tests de toxicité aiguë			D'après la nature et la concentration de chaque composé de formulation, les données présentées conjointement aux demandes d'exemption ont été jugées acceptables pour évaluer pleinement les risques associés aux quatre préparations commerciales. **DEMANDES D'EXEMPTION ACCEPTÉES**	PMRA 1098428, 1098429, 1098431, 1098432, 1098434, 1098435, 1098483, 1098484, 1098486, 1098487, 1098489, 1098490, 1098529, 1098530, 1098532, 1098533, 1098535, 1098536, 1098574, 1098575, 1098577, 1098578, 1098580, 1098581

1 CMM = cote moyenne maximale
2 IMI = indice maximum d'irritation

Type d'étude	Espèces, souche et doses	Résultats	Effets significatifs et commentaires	Référence
Sensibilisation cutanée	Cobaye albinos Induction : 10/sexe, injections intradermiques avec 0,1 ml a) d'adjuvant complet de Freund dilué dans un volume égal d'eau; b) de 5 % d'AMLA dans de l'eau; c) de 5 % d'AMLA dans un mélange 50:50 d'adjuvant complet de Freund et d'eau. Après 1 semaine, application topique avec 0,4 ml d'AMLA en suspension pendant 48 h. Provocation : Applications topiques de 0,2 ml d'AMLA non dilué et d'un mélange 50:50 d'AMLA et d'eau distillée sur des sites naïfs	SENSIBILISANT	24 h après le test de provocation, la plupart des animaux manifestaient un érythème et un œdème définis (stade 2) (provocation avec AMLA à 100 %) et 14 animaux sur 20 ayant reçu le mélange 50:50 d'AMLA et d'eau avaient des réactions similaires. Érythème de modéré à grave (stade 3) chez 7 animaux sur 20 après 48 h et chez 8 animaux sur 20 après 72 h. Plus de la moitié des animaux présentaient un œdème de modéré (stade 3) à grave (stade 4) à 48 h et 72 h respectivement. Nécrose, plaques ou bordures nécrotiques observées chez 12 animaux sur 20 à 48 h et chez 6 animaux sur 20 à 72 h.	PMRA 1099729
Irritation oculaire primaire	Lapin NZB 6 ♀ instillées avec 0,1 ml d'une suspension d'AMLA (équivalant à 1×10^7 CFU/œil), dans le sac conjonctival de l'œil droit	CMM[1] = 4,6/110 (24, 48 et 72 h) IMI[2] = 6/110 (24 h)	Après 1 h : légère rougeur de la conjonctive (stade 1) constatée. Après 24 h : chémosis constaté (stade 1). Irritation disparue au j 4. **MINIMALEMENT IRRITANT**	PMRA 1099731

Type d'étude	Espèces, souche et doses	Résultats	Effets significatifs et commentaires	Référence
Toxicité aiguë et irritation : Pro-Mix (HP, BX, PGX et TA) avec Biofongicide				
Tous les tests de toxicité aiguë			D'après la nature et la concentration de chaque composé de formulation, les données présentées conjointement aux demandes d'exemption ont été jugées acceptables pour évaluer pleinement les risques associés aux quatre préparations commerciales. **DEMANDES D'EXEMPTION ACCEPTÉES**	PMRA 1098428, 1098429, 1098431, 1098432, 1098434, 1098435, 1098483, 1098484, 1098486, 1098487, 1098489, 1098490, 1098529, 1098530, 1098532, 1098533, 1098535, 1098536, 1098574, 1098575, 1098577, 1098578, 1098580, 1098581

[1] CMM = cote moyenne maximale
[2] IMI = indice maximum d'irritation

Tableau 2 Toxicité pour les espèces non ciblées

Organisme	Exposition	Substance(s) à l'essai	Valeur de référence	Effets significatifs, commentaires	Référence
Organismes terrestres					
Vertébrés					
Oiseaux	Orale (*Colinus virginianus*)	*B. subtilis* souche MBI 600	DL_{50} > 4 000 mg/kg p.c./j durant 5 j	Aucune mortalité et aucun signe clinique de toxicité.	PMRA 1099733, 1099750
		Métabolites hydrosolubles du *B. subtilis* souche MBI 600	DL_{50} > 240 mg/kg p.c./j durant 5 j	À l'autopsie, rate pâle ou hypertrophiée observée chez 1 ♀ ayant reçu les métabolites hydrosolubles et chez 1 ♂ ayant reçu le *B. subtilis* MBI 600.	
		Spores lavées de *B. subtilis* souche MBI 600	DL_{50} > 3 680 mg/kg p.c./j durant 5 j	**FAIBLE TOXICITÉ; NON INFECTIEUX**	
Mammifères sauvages	Le demandeur n'a présenté ni étude ni demande d'exemption. Quelques rapports dans les ouvrages scientifiques publiés signalent des effets nocifs : le *B. subtilis* a été mis en cause dans des cas de mastite bovine et de troubles de reproduction chez la chèvre. Aucun autre rapport d'effet nocif n'a été publié malgré l'omniprésence de ce microorganisme dans l'environnement. Les études de toxicité aiguë et d'infectiosité (voies orale, intraveineuse, cutanée et par inhalation) sur des rats traités avec l'AMLA indiquent une clairance complète ou un schéma net de clairance de l'AMLA chez les mammifères. La toxicité n'a été observée que lors de l'exposition par inhalation et cela correspond aux constats pour d'autres espèces de *Bacillus*. Toutefois, de tels effets nocifs chez des mammifères non ciblés ne sont pas prévus, d'après le scénario d'exposition relatif à l'utilisation proposée du Pro-Mix avec Biofongicide dans les serres. **DEMANDE D'EXEMPTION ACCEPTÉE**				PMRA 1099768, 1099771, 1099726, 1099727, 1099781, 1099782
Invertébrés					
Abeilles domestiques	Orale (voie alimentaire)	Le demandeur n'a pas présenté d'étude. Dans sa demande d'exemption, il a inclus une étude publiée dans laquelle les abeilles sont directement inoculées avec le *B. subtilis* comme vecteur d'un agent de lutte biologique visant à ouvrir les fleurs de bleuet et où l'on n'a pas constaté d'effet nocif. **DEMANDE D'EXEMPTION ACCEPTÉE**			PMRA 1099737, 1099738
	Contact (couvain ou ruche)				

Organisme	Exposition	Substance(s) à l'essai	Valeur de référence	Effets significatifs, commentaires	Référence
Autres arthropodes	Alimentaire	Le demandeur n'a pas présenté d'étude. Dans sa demande d'exemption, il fait état de quelques effets nocifs mentionnés dans les ouvrages publiés, malgré l'omniprésence de la bactérie dans la nature. Quatre souches de *B. subtilis* ont été isolées de larves malades de moustiques *Culex* et *Anopheles culicifacies*. Des constats similaires ont été signalés chez six lépidoptères ravageurs du riz inoculés avec une suspension bactérienne de *B. subtilis*. Le *B. subtilis* n'est généralement pas considéré comme un pathogène des insectes. **DEMANDE D'EXEMPTION ACCEPTÉE**			PMRA 1099737, 1099738
Lombrics	Aiguë	Le demandeur n'a pas présenté d'étude. Dans sa demande d'exemption, il a inclus une étude publiée dans laquelle *Caenorhabditis elegans* (un nématode) n'a montré aucun signe de toxicité ou de pathogénicité après exposition alimentaire au *B. subtilis*. Dans d'autres ouvrages scientifiques publiés, on rapporte qu'une autre souche de *B. subtilis* peut être utilisée comme agent de lutte contre le nématode cécidogène (*Meloidogyne incognita*), un parasite de la tomate. Cependant, le mode d'action n'a pas été élucidé et la relation pathogène n'a pas été établie. Le *B. subtilis* n'est généralement pas considéré comme un pathogène des invertébrés non-arthropodes. **DEMANDE D'EXEMPTION ACCEPTÉE**			PMRA 1099745, 1099746, 1099747
Microorganismes du sol	Aiguë	Le demandeur n'a présenté ni étude ni demande d'exemption. Des données d'efficacité ne sont pas requises bien que le produit vise à lutter contre des microorganismes nuisibles, car le *B. subtilis* est un constituant normal du sol et l'organisme ne devrait pas affecter des espèces de microorganismes d'importance environnementale ou économique ou les processus géochimiques où interviennent des microorganismes.			
Plantes vasculaires					
Plantes vasculaires	Aiguë (*Glycine max* cultivar Asgrow A-3427)	*B. subtilis* souche MBI 600	$CE_{50} > 10^7$ spores/graine CSEO = 10^7 spores/graine	Aucun effet constaté attribuable au traitement. **NON TOXIQUE, NON PATHOGÈNE**	PMRA 1099748, 1099750

Tableau 2 Toxicité pour les espèces non ciblées

Organisme	Exposition	Substance(s) à l'essai	Valeur de référence	Effets significatifs, commentaires	Référence
Organismes terrestres					
Vertébrés					
Oiseaux	Orale (*Colinus virginianus*)	*B. subtilis* souche MBI 600	DL_{50} > 4 000 mg/kg p.c./j durant 5 j	Aucune mortalité et aucun signe clinique de toxicité.	PMRA 1099733, 1099750
		Métabolites hydrosolubles du *B. subtilis* souche MBI 600	DL_{50} > 240 mg/kg p.c./j durant 5 j	À l'autopsie, rate pâle ou hypertrophiée observée chez 1 ♀ ayant reçu les métabolites hydrosolubles et chez 1 ♂ ayant reçu le *B. subtilis* MBI 600.	
		Spores lavées de *B. subtilis* souche MBI 600	DL_{50} > 3 680 mg/kg p.c./j durant 5 j	**FAIBLE TOXICITÉ; NON INFECTIEUX**	
Mammifères sauvages	Le demandeur n'a présenté ni étude ni demande d'exemption. Quelques rapports dans les ouvrages scientifiques publiés signalent des effets nocifs : le *B. subtilis* a été mis en cause dans des cas de mastite bovine et de troubles de reproduction chez la chèvre. Aucun autre rapport d'effet nocif n'a été publié malgré l'omniprésence de ce microorganisme dans l'environnement. Les études de toxicité aiguë et d'infectiosité (voies orale, intraveineuse, cutanée et par inhalation) sur des rats traités avec l'AMLA indiquent une clairance complète ou un schéma net de clairance de l'AMLA chez les mammifères. La toxicité n'a été observée que lors de l'exposition par inhalation et cela correspond aux constats pour d'autres espèces de *Bacillus*. Toutefois, de tels effets nocifs chez des mammifères non ciblés ne sont pas prévus, d'après le scénario d'exposition relatif à l'utilisation proposée du Pro-Mix avec Biofongicide dans les serres. **DEMANDE D'EXEMPTION ACCEPTÉE**				PMRA 1099768, 1099771, 1099726, 1099727, 1099781, 1099782
Invertébrés					
Abeilles domestiques	Orale (voie alimentaire)	Le demandeur n'a pas présenté d'étude. Dans sa demande d'exemption, il a inclus une étude publiée dans laquelle les abeilles sont directement inoculées avec le *B. subtilis* comme vecteur d'un agent de lutte biologique visant à ouvrir les fleurs de bleuet et où l'on n'a pas constaté d'effet nocif. **DEMANDE D'EXEMPTION ACCEPTÉE**			PMRA 1099737, 1099738
	Contact (couvain ou ruche)				

Organisme	Exposition	Substance(s) à l'essai	Valeur de référence	Effets significatifs, commentaires	Référence
Autres arthropodes	Alimentaire	Le demandeur n'a pas présenté d'étude. Dans sa demande d'exemption, il fait état de quelques effets nocifs mentionnés dans les ouvrages publiés, malgré l'omniprésence de la bactérie dans la nature. Quatre souches de *B. subtilis* ont été isolées de larves malades de moustiques *Culex* et *Anopheles culicifacies*. Des constats similaires ont été signalés chez six lépidoptères ravageurs du riz inoculés avec une suspension bactérienne de *B. subtilis*. Le *B. subtilis* n'est généralement pas considéré comme un pathogène des insectes. **DEMANDE D'EXEMPTION ACCEPTÉE**			PMRA 1099737, 1099738
Lombrics	Aiguë	Le demandeur n'a pas présenté d'étude. Dans sa demande d'exemption, il a inclus une étude publiée dans laquelle *Caenorhabditis elegans* (un nématode) n'a montré aucun signe de toxicité ou de pathogénicité après exposition alimentaire au *B. subtilis*. Dans d'autres ouvrages scientifiques publiés, on rapporte qu'une autre souche de *B. subtilis* peut être utilisée comme agent de lutte contre le nématode cécidogène (*Meloidogyne incognita*), un parasite de la tomate. Cependant, le mode d'action n'a pas été élucidé et la relation pathogène n'a pas été établie. Le *B. subtilis* n'est généralement pas considéré comme un pathogène des invertébrés non-arthropodes. **DEMANDE D'EXEMPTION ACCEPTÉE**			PMRA 1099745, 1099746, 1099747
Microorganismes du sol	Aiguë	Le demandeur n'a présenté ni étude ni demande d'exemption. Des données d'efficacité ne sont pas requises bien que le produit vise à lutter contre des microorganismes nuisibles, car le *B. subtilis* est un constituant normal du sol et l'organisme ne devrait pas affecter des espèces de microorganismes d'importance environnementale ou économique ou les processus géochimiques où interviennent des microorganismes.			
Plantes vasculaires					
Plantes vasculaires	Aiguë (*Glycine max* cultivar Asgrow A-3427)	*B. subtilis* souche MBI 600	$CE_{50} > 10^7$ spores/graine CSEO = 10^7 spores/graine	Aucun effet constaté attribuable au traitement. **NON TOXIQUE, NON PATHOGÈNE**	PMRA 1099748, 1099750

Organisme	Exposition	Substance(s) à l'essai	Valeur de référence	Effets significatifs, commentaires	Référence
Organismes aquatiques					
Vertébrés					
Poisson dulcicole	Aiguë (*Cyprinus carpio*)	*B. subtilis* souche MBI 600	$CE_{50} > 2,0 \times 10^8$ CFU/ml CSEO = $2,0 \times 10^8$ CFU/ml	Aucun effet constaté attribuable au traitement. **NON TOXIQUE, NON PATHOGÈNE**	ARLA 1099734
Poisson estuarien ou marin	Aiguë	Le demandeur n'a pas présenté d'étude. Dans sa demande d'exemption, il présente une étude publiée dans laquelle la dorade royale (*Sparus aurata* L.) ne démontre pas d'effet toxique ou pathogène après exposition alimentaire au *B. subtilis* comme probiotique potentiel. Dans la documentation scientifique publiée, on ne relève aucun rapport d'effets nocifs malgré l'omniprésence du *Bacillus*. On s'attend d'ailleurs à ce que l'exposition au *B. subtilis* souche MBI 600 soit minime d'après l'utilisation proposée du Pro-Mix avec Biofongicide dans les serres. **DEMANDE D'EXEMPTION ACCEPTÉE**			PMRA 1099735, 1099736, 1099739, 1099741, 1099743
Invertébrés					
Arthropodes dulcicoles	Aiguë	Le demandeur n'a pas présenté d'étude. Dans sa demande d'exemption, il présente une étude publiée dans laquelle la crevette tigrée (*Panaeus monodon*) ne démontre d'effet toxique ou pathogène après exposition aqueuse au *B. subtilis*. Dans la documentation scientifique publiée, on ne relève aucun rapport d'effets nocifs malgré l'omniprésence du *Bacillus*. On s'attend d'ailleurs à ce que l'exposition au *B. subtilis* souche MBI 600 soit minime d'après l'utilisation proposée du Pro-Mix avec Biofongicide dans les serres. **DEMANDE D'EXEMPTION ACCEPTÉE**			PMRA 1099739, 1099740, 1099741, 1099742, 1099743, 1099744
Arthropodes estuariens ou marins	Aiguë				
Invertébrés non-arthropodes	Aiguë	Le demandeur n'a présenté ni étude ni demande d'exemption. Les ouvrages publiés indiquent que même si le *B. subtilis* a été isolé de milieux aquatiques, il n'y a pas de rapports d'effets nocifs sur des invertébrés non-arthropodes aquatiques. On s'attend d'ailleurs à ce que l'exposition au *B. subtilis* souche MBI 600 soit minime d'après l'utilisation proposée du Pro-Mix avec Biofongicide dans les serres. **DEMANDE D'EXEMPTION ACCEPTÉE**			PMRA 1099768, 1099771

Organisme	Exposition	Substance(s) d'intérêt	Valeur de référence	Effets significatifs et commentaires	Référence
Végétaux					
Algues	Aiguë	Le demandeur n'a pas présenté d'étude. Dans une étude sur les végétaux terrestres, on n'a relevé aucun effet sur les graines de *Glycine max* traitées avec le *B. subtilis* souche MBI 600. Dans la documentation scientifique publiée, on ne relève aucun rapport d'effets nocifs malgré l'omniprésence du *Bacillus*. On s'attend d'ailleurs à ce que l'exposition au *B. subtilis* souche MBI 600 soit minime d'après l'utilisation proposée du Pro-Mix avec Biofongicide dans les serres. **DEMANDE D'EXEMPTION ACCEPTÉE**			PMRA 1099749, 1316478, 1316471
Plantes dulcicoles					

Tableau 3 Fongicides et biopesticides de remplacement pour la suppression ou la répression des maladies causées par *Pythium* sur les légumes et les plantes ornementales de serre

Matière active de qualité technique	Préparation commerciale	Allégation de suppression ou répression	Groupe de fongicide	
			Groupe	Mode d'action
Benzoate d'oxine	No-Damp	Fonte des semis	M2	Sites multiples
Captan	Maestro 80 DF	Fonte des semis	M4	Sites multiples
Métalaxyl-M et isomère S	Ridomil Gold 480EC	Fonte des semis	4	Synthèse des acides nucléiques
Métalaxyl-M et isomère S	Subdue-MAXX	Fonte des semis et pourriture des racines	4	Synthèse des acides nucléiques
Chlorhydrate de propamocarbe	Previcur-N	Maladies des racines	28	Perméabilité de la membrane cellulaire
Fosétyl-Al	Aliette WDG	Fonte des semis	33	Inconnu
Étridiazole	Truban	Fonte des semis et pourriture des racines	14	Synthèse des membranes et des lipides
Trichoderma harzianum Rifai souche KRL-AG2	RootShield Drench	Fonte des semis et pourriture des racines	—	Multiple
Trichoderma harzianum Rifai souche KRL-AG2	RootShield Granules	Fonte des semis et pourriture des racines	—	Multiple
Streptomyces griseoviridis souche K6	Mycostop	Fonte des semis, pourriture des racines et du collet	—	Multiple

Tableau 3 Fongicides et biopesticides de remplacement pour la suppression ou la répression des maladies causées par *Pythium* sur les légumes et les plantes ornementales de serre

Matière active de qualité technique	Préparation commerciale	Allégation de suppression ou répression	Groupe de fongicide	
			Groupe	Mode d'action
Benzoate d'oxine	No-Damp	Fonte des semis	M2	Sites multiples
Captan	Maestro 80 DF	Fonte des semis	M4	Sites multiples
Métalaxyl-M et isomère S	Ridomil Gold 480EC	Fonte des semis	4	Synthèse des acides nucléiques
Métalaxyl-M et isomère S	Subdue-MAXX	Fonte des semis et pourriture des racines	4	Synthèse des acides nucléiques
Chlorhydrate de propamocarbe	Previcur-N	Maladies des racines	28	Perméabilité de la membrane cellulaire
Fosétyl-Al	Aliette WDG	Fonte des semis	33	Inconnu
Étridiazole	Truban	Fonte des semis et pourriture des racines	14	Synthèse des membranes et des lipides
Trichoderma harzianum Rifai souche KRL-AG2	RootShield Drench	Fonte des semis et pourriture des racines	–	Multiple
Trichoderma harzianum Rifai souche KRL-AG2	RootShield Granules	Fonte des semis et pourriture des racines	–	Multiple
Streptomyces griseoviridis souche K6	Mycostop	Fonte des semis, pourriture des racines et du collet	–	Multiple

Références

Liste des études et des renseignements fournis par le demandeur

1.0 La matière active, ses propriétés et ses utilisations (en anglais seulement)

PMRA 1099752 Product profile and proposed use pattern *Bacillus subtilis* MBI 600 Technical. Premier Horticulture. 2005. DACO: M1.2

PMRA 1099753 International Regulatory Status of the *Bacillus subtilis* MBI 600 Technical. Premier Horticulture. 2005. DACO: M1.3

PMRA 1098379 Product profile and proposed use pattern Subtilex™ Biological Fungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M1.2

PMRA 1098380 International Regulatory Status Subtilex™ Biological Fungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO M1.3

PMRA 1098404 Product profile and proposed use pattern PRO-MIX HP with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M1.2

PMRA 1098405 International Regulatory Status PRO-MIX HP with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M1.3

PMRA 1098448 Product profile and proposed use pattern PRO-MIX BX with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M1.2

PMRA 1098449 International Regulatory Status PRO-MIX BX with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M1.3

PMRA 1098505 Product profile and proposed use pattern PRO-MIX PGX with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M1.2

PMRA 1098506 International Regulatory Status PRO-MIX PGX with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M1.3

PMRA 1098550 Product profile and proposed use pattern PRO-MIX TA with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M1.2

PMRA 1098551 International Regulatory Status PRO-MIX TA with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M1.3

2.0 Méthodes d'analyse

PMRA 1099756 Product Characterization and Analysis Table. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.1, M2.2, M2.3, M2.4, M2.5, M9.7

PMRA 1099758 Analysis for Microbial Contaminants. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.10.2

PMRA 1099759 Analysis for Microbial Contaminant. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.10.3

PMRA 1099760 Stability/Shelf-Life Evaluation of Subtilex. Becker Underwood Inc. 2005. DACO: M2.11

PMRA 1099761 Summary of Physical and Chemical Properties. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.12

PMRA 1099762 Canadian Patent Database Patent: CA 1324099 and 1337935, Canadian Intellectual Property Office. 1993. DACO: M2.6

PMRA 1099763 Results of API test Kit. Becker Underwood Inc. 2004. DACO: M2.7.1

PMRA 1099764 Reconnaître la souche de *Bacillus subtilis* MBI 600 parmi différentes souches de *Bacillus* sp. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.7.1

PMRA 1099765 Origin, derivation and identification MPCA *Bacillus subtilis* MBI 600 Technical. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.7.1

PMRA 1099766 Confirmation of Strain Discovery Letter. The University of Nottingham. 2004. DACO: M2.7.1

PMRA 1099767 Biological Properties of the MPCA. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.7.2

PMRA 1099768 Review of litterature on occurrence and persistence of the bacterium *Bacillus subtilis* (1999-2005). Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.7.2

PMRA 1099769 USEPA. 1997. *Bacillus subtilis* Final risk assessment, United States Environmental Protection Agency. DACO: M2.7.2

PMRA 1099770 USEPA. Summary of EPA findings with commercial *Bacillus subtilis* strains, United States Environmental Protection Agency. DACO: M2.7.2

PMRA 1099771 Review of litterature on occurrence and persistence of the bacterium *Bacillus subtilis*. The MicroBio Group Ltd. 1999. DACO: M2.7.2

PMRA 1099773 Manufacturing methods and quality assurance. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.8,M2.9.2

PMRA 1099774 Product Chemistry Data, GUS 376 Concentrate Biological Fungicide. Gustafson. 1993. DACO: M2.8,M2.9.2

PMRA 1099775	Product specifications. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.9.1
PMRA 1099777	Disclosure of Ingredients. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.9.3
PMRA 1100204	Standard Operating procedures for the QC and QA of Becker Underwood's *Bacillus subtilis* (MBI 600) Products. Gustafson. DACO: M2.8
PMRA 1290506	Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. Method ILMA-004: Méthode d'analyse Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*: méthode par filtration sur membrane. DACO: M2.10
PMRA 1290520	Methods ILME-8, ILME-4, ILME-31, ILME-28, USP 27 and ILCE-030. DACO: M2.10
PMRA 1290521	Additional Information for DACO M2.11 - Storage Stability. 2006. DACO: M2.10
PMRA 1303381	Préparation d'un milieu de culture, PHL-LA-WI-090. 2002. DACO: M2.8
PMRA 1303387	Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec. Méthode d'analyse. Recherche et dénombrement de *Straphylococcus aureus* méthode par filtration sur membrane, MA.700-STA 1.0. 2005. DACO: M2.8
PMRA 1290484	Cover Letter, A. Bourassa to D. Rochon. August 14, 2006. DACO: 0.8
PMRA 1098381	Product Characterization and Analysis. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.1, M2.2, M2.3, M2.4, M2.5, M2.6
PMRA 1098382	Analysis for Other Unintentional Ingredients. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.10.3
PMRA 1098383	Stability/Shelf-Life Evaluation of Subtilex. Becker Underwood. 2005. DACO: M2.11
PMRA 1098384	Summary of Physical and Chemical Properties. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.12
PMRA 1098385	Production of Subtilex™ Biological Fungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.8
PMRA 1098386	Product Specification Form. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.9.1
PMRA 1098387	Disclosure of Ingredients. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.9.3

PMRA 1098406 Product Characterization and Analysis Table. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.1,M2.2,M2.3,M2.4,M2.5,M2.6

PMRA 1098407 Analysis for Other Unintentional Ingredients for Pro-Mix HP with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.10.3

PMRA 1098408 Storage stability results for PRO-MIX HP with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.11

PMRA 1098409 Product specifications form and formulants MSDS, Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.9.1

PMRA 1098418 Waiver requested for contaminants screening results for PRO-MIX HP with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.10.2

PMRA 1098419 Waiver requested for summary of Physical and Chemical Properties. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.12

PMRA 1098455 Manufacturing methods/process and quality assurance PRO-MIX BX with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.8

PMRA 1098457 Count of active ingredient *Bacillus subtilis* MBI 600 instructions for PRO-MIX BX with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.9.2

PMRA 1098458 Disclosure of Ingredients for PRO-MIX BX with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.9.3

PMRA 1098450 Product Characterization and Analysis. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.1, M2.2, M2.3, M2.4, M2.5, M2.6

PMRA 1098451 Contaminants screening results for PRO-MIX BX with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.10.2

PMRA 1098452 Analysis for Other Unintentional Ingredients for Pro-Mix BX with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.10.3

PMRA 1098453 Storage stability results for PRO-MIX BX with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.11

PMRA 1098454 Summary of Physical and Chemical Properties. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.12

PMRA 1098456 Product specifications form and formulants MSDS. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.9.1

PMRA 1098507 Product Characterization and Analysis Table. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.1, M2.2, M2.3, M2.4, M2.5, M2.6

PMRA 1098508 Analysis for Other Unintentional Ingredients for Pro-Mix PGX with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.10.3

PMRA 1098509 Storage stability results for PRO-MIX PGX with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.11

PMRA 1098510 Waiver requested for summary of Physical and Chemical Properties. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.12

PMRA 1098511 Product specifications form and formulants MSDS. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.9.1

PMRA 1098552 Product Characterization and Analysis. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.1,M2.2,M2.3,M2.4,M2.5,M2.6

PMRA 1098553 Analysis for Other Unintentional Ingredients for Pro-Mix TA with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.10.3

PMRA 1098554 Storage stability for PRO-MIX TA with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.11

PMRA 1098555 Waiver requested for summary of Physical and Chemical Properties. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.12

PMRA 1098556 Product specifications form and formulants MSDS. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.9.1

PMRA 1099904 Analysis for Other Unintentional Ingredients for Pro-Mix TA with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.10.2

PMRA 1100190 Analysis for Microbial Contaminants PRO MIX TA with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M2.10.2

3.0 Effets sur la santé des humains et des animaux (en anglais seulement)

PMRA 1099726 Acute intravenous toxicity and infectivity/Pathogenicity to rats of MBI 600, Huntingdon Research Centre Ltd, Report No. 89398D/AGC 1/3/AC. 1989. DACO: M4.3.2

PMRA 1099727 Acute dermal toxicity of rabbits of MBI 600. Huntingdon Research Centre Ltd, Report No. 89270D/AGC 1/1/AC. 1989. DACO: M4.4,M4.5.2

PMRA 1099729 Delayed contact hypersensivity in the Guinea-Pig with MBI 600. Huntingdon Research Centre Ltd, Report No. 89429D/AGC 2/SS. 1989. DACO: M4.6

PMRA 1099730 USEPA. Data Evaluation Reports. United States Environmental Protection Agency. 1993. DACO: M4.9

PMRA 1099731 Primary eye irritation and infectivity of MBI 600. Huntingdon Research Centre Ltd, Report No . 89399D/AGC 1/4/SE. 1989. DACO: M4.9

PMRA 1099781 Acute oral toxicity and infectivity/Pathogenicity to rats of MBI 600 Technical. Huntingdon Research Centre Ltd, Report No. 89396D/AGC 1/0/AC. 1989. DACO: M4.2.2

PMRA 1099782 Acute pulmonary toxicity and infectivity/Pathogenicity to rats of MBI 600. Huntingdon Research Centre Ltd, Report No. 89397D/AGC 1/2/AC. 1989. DACO: M4.2.3

PMRA 1098428 Acute oral infectivity/pathogenicity and toxicity for PRO-MIX HP with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.2.2

PMRA 1098429 Acute pulmonary infectivity/pathogenicity and toxicity for PRO-MIX HP with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.2.3

PMRA 1098431 Intravenous infectivity for PRO-MIX HP with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.3.2

PMRA 1098432 Acute dermal toxicity for PRO-MIX HP with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.4

PMRA 1098434 Acute dermal irritation for PRO-MIX HP with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.5.2

PMRA 1098435 Reporting of hypersensitivity incidence for PRO-MIX HP with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.6

PMRA 1098483 Acute oral infectivity/pathogenicity and toxicity for PRO-MIX BX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.2.2

PMRA 1098484 Acute pulmonary infectivity/pathogenicity and toxicity for PRO-MIX BX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.2.3

PMRA 1098486 Intravenous infectivity for PRO-MIX BX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.3.2

PMRA 1098487 2005, Acute dermal toxicity for PRO-MIX BX with biofungicide, Technology Sciences Group, S/O, MRID: S/O, DACO: M4.4

PMRA 1098489	Acute dermal irritation for PRO-MIX BX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.5.2
PMRA 1098490	Reporting of hypersensitivity incidence for PRO-MIX BX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.6
PMRA 1098529	Acute oral infectivity/pathogenicity and toxicity for PRO-MIX PGX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.2.2
PMRA 1098530	Acute pulmonary infectivity/pathogenicity and toxicity for PRO-MIX PGX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.2.3
PMRA 1098532	Intravenous infectivity for PRO-MIX PGX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.3.2
PMRA 1098533	Acute dermal toxicity for PRO-MIX PGX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.4
PMRA 1098535	Acute dermal irritation for PRO-MIX PGX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.5.2
PMRA 1098536	Reporting of hypersensitivity incidence for PRO-MIX PGX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.6
PMRA 1098574	Acute oral infectivity/pathogenicity and toxicity for PRO-MIX TA with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.2.2
PMRA 1098575	Acute pulmonary infectivity/pathogenicity and toxicity for PRO-MIX TA with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.2.3
PMRA 1098577	Intravenous infectivity for PRO-MIX TA with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.3.2
PMRA 1098578	Acute dermal toxicity for PRO-MIX TA with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.4
PMRA 1098580	Acute dermal irritation for PRO-MIX TA with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.5.2
PMRA 1098581	Reporting of hypersensitivity incidence for PRO-MIX TA with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M4.6

4.0 Effets sur l'environnement (en anglais seulement)

PMRA 1099733 *Bacillus subtilis* Strain MBI 600: An Avian Oral Pathogenicity and Toxicity Study in the Bobwhite. Wildlife International Ltd, Project No. 301-102. 1992. DACO: M9.2.1

PMRA 1099734 Toxicity Study of *Bacillus subtilis* MBI 600 on Carp (*Cyprinus carpio*). Sumika Technos Co. Ltd., Study No. STS (2)-97004. 1997. DACO: M9.4.1

PMRA 1099735 Waiver Request for Estuarine and Marine Fish/Animal Study. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.4.2

PMRA 1099736 Salinas, I., A. Cuesta, M. Ángeles Esteban and J. Messeguer. 2005. Dietary administration of *Lactobacillus delbrüeckii* and *Bacillus subtilis*, single or combined, on gilthead seabream cellular innate immune responses. *Fish Shellfish Immunol.* **19**:67–77. DACO: M9.4.2

PMRA 1099737 Waiver Request for Terrestrial Arthropods and the Honeybee Studies. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.5.1

PMRA 1099738 Dedej, S., K.S. Delaplane and H. Scherm. 2004. Effectiveness of honey bees in delivering the biocontrol agent *Bacillus subtilis* to blueberry flowers to suppress mummy berry disease. *Biol. Control* **31**:422–427. DACO: M9.5.1

PMRA 1099739 Arellano-Carbajal, F. and J Olmos-Soto. 2002. Thermostable α-1,4- and α-1,6-glucosidase enzymes from *Bacillus* sp. isolated from a marine environment. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **18**:791–795. DACO: M9.5.2

PMRA 1099740 Waiver Request for Aquatic Arthropod Study. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.5.2

PMRA 1099741 Patnayak, S. and A. Sree. 2005. Screening of bacterial associates of marine sponges for single cell oil and PUFA. *Lett. Appl. Microbiol.* **40**:358–363. DACO: M9.5.2

PMRA 1099742 Vaseeharan, B. and P. Ramasamy. 2003. Control of pathogenic *Vibrio* spp. by *Bacillus subtilis* BT23, a possible probiotic treatment for black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Lett. Appl. Microbiol.* **36**:83–87. DACO: M9.5.2

PMRA 1099743 Ivanova, E.P., M.V. Vysotskii, V.I. Svetashev, O.I. Nedashkovskaya, N.M. Gorshkova, V.V. Mikailhov N. Yumoto, Y. Shigeri, T. Taguchi and S. Yoshikawa. 1992. Characterization of *Bacillus* strains of marine origin. *Internatl. Microbiol.* **2**:267–271. DACO: M9.5.2

PMRA 1099744	Liang, L.N., J.L. Sinclair, L.M. Mallory and M. Alexander. 1982. Fate in model ecosystems of microbial species of potential use in genetic engineering. *Appl. Environ. Microbiol.* **44**:708–714. DACO: M9.5.2
PMRA 1099745	Waiver Request for Non-Arthropod Invertebrates Study. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.6
PMRA 1099746	Garsin D.A., C.D. Sifri, E. Mylonakis, X. Qin, K.V. Singh, B.E. Murray, S.B. Calderwood and F.M. Ausubel. 2001. A simple model host for identifying Gram-positive virulence factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **98**:10892–10897. DACO: M9.6
PMRA 1099747	Hill, I.R. and T.R.G. Gray. 1967. Application of the fluorescent-antibody technique to an ecological study of bacteria in soil. *J. Bacteriol.* **93**:1888–1896. DACO: M9.6
PMRA 1099748	Evaluation of *Bacillus subtilis* MBI 600 (ATCC No. SD-1414) for its effect on soybeans (*Glycine max*). Gustafson Biological Research Laboratory, Project No. 91417. 1991. DACO: M9.8.1
PMRA 1099749	Waiver Requested for Aquatic Plants Study. Premier Horticulture. 2005. DACO: M9.8.2
PMRA 1099750	USEPA. Data Evaluation Report (DER). United States Environmental Protection Agency. 1994. DACO: M9.9
PMRA 1316478	Waiver Requested for Aquatic Plants Study. Premier Horticulture. 2005. DACO: M9.8.2
PMRA 1316471	Waiver Requested for Aquatic Plants Study. Premier Horticulture. 2005. DACO: M9.8.2
PMRA 1098438	Avian oral toxicity for PRO-MIX HP with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.2.1
PMRA 1098439	Freshwater fish for PRO-MIX HP with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.4.1
PMRA 1098440	Estuarine and marine fish/animal for PRO-MIX HP with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.4.2
PMRA 1098441	Terrestrial arthropods and honeybee for PRO-MIX HP with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.5.1
PMRA 1098442	Aquatic arthropods for PRO-MIX HP with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.5.2

PMRA 1098443 Non-arthropod invertebrates for PRO-MIX HP with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.6

PMRA 1098444 Terrestrial plants for PRO-MIX HP with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.8.1

PMRA 1098445 Waiver requested for aquatic plants study for PRO-MIX HP with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M9.8.2

PMRA 1098493 Avian oral toxicity for PRO-MIX BX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.2.1

PMRA 1098494 Freshwater fish for PRO-MIX BX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.4.1

PMRA 1098495 Estuarine and marine fish/animal for PRO-MIX BX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.4.2

PMRA 1098496 Terrestrial arthropods and honeybee for PRO-MIX BX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.5.1

PMRA 1098497 Aquatic arthropods for PRO-MIX BX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.5.2

PMRA 1098498 Non-arthropod invertebrates for PRO-MIX BX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.6

PMRA 1098499 Terrestrial plants for PRO-MIX BX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.8.1

PMRA 1098500 Waiver requested for aquatic plants study for PRO-MIX BX with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M9.8.2

PMRA 1098539 Avian oral toxicity for PRO-MIX PGX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.2.1

PMRA 1098540 Freshwater fish for PRO-MIX PGX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.4.1

PMRA 1098541 Estuarine and marine fish/animal for PRO-MIX PGX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.4.2

PMRA 1098542 Terrestrial arthropods and honeybee for PRO-MIX PGX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.5.1

PMRA 1098543 Aquatic arthropods for PRO-MIX PGX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.5.2

PMRA 1098544 Non-arthropod invertebrates for PRO-MIX PGX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.6

PMRA 1098545 Terrestrial plants for PRO-MIX PGX with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.8.1

PMRA 1098546 Waiver requested for aquatic plants study for PRO-MIX PGX with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M9.8.2

PMRA 1098584 Avian oral toxicity for PRO-MIX TA with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.2.1

PMRA 1098585 Freshwater fish for PRO-MIX TA with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.4.1

PMRA 1098586 Estuarine and marine fish/animal for PRO-MIX TA with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.4.2

PMRA 1098587 Terrestrial arthropods and honeybee for PRO-MIX TA with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.5.1

PMRA 1098588 Aquatic arthropods for PRO-MIX TA with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.5.2

PMRA1098589 Non-arthropod invertebrates for PRO-MIX TA with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.6

PMRA 1098590 Terrestrial plants for PRO-MIX TA with Biofungicide. Technology Sciences Group. 2005. DACO: M9.8.1

PMRA 1098591 Waiver requested for aquatic plants study for PRO-MIX TA with Biofungicide. Premier Horticulture. 2005. DACO: M9.8.2

5.0 Valeur (en anglais seulement)

PMRA 1098459 Premier Horticulture, Canada. 2005. Summaries of the trials. p. 8.

PMRA 1098460 Martinez, C., A. Bourassa, G. Roy and P. Bussières. 2005. Efficacy of PRO-MIX with Subtilex against root rot disease caused by *Pythium ultimum* on sweet pepper. p. 128.

PMRA 1098461 Martinez, C., A. Bourassa, G. Roy and P. Bussières. 2005. Efficacy of PRO-MIX with Subtilex against damping-off disease caused by *Pythium ultimum* on tomatoes. p. 134.

PMRA 1098462 Martinez, C., Bourassa, A., Roy, G. and Bussières, P. 2005. Efficacy of PRO-MIX with Subtilex against root rot disease caused by *Pythium ultimum* on cucumber. p. 92.

PMRA 1098463 Martinez, C., Bourassa, A., Roy, G. and Bussières, P. 2005. Efficacy of PRO-MIX with Subtilex against root rot diseases caused by *Pythium ultimum* on celosia. p. 130.

PMRA 1098464 Martinez, C., A. Bourassa, G. Roy and P. Bussières. 2005. Efficacy of PRO-MIX with Subtilex against damping-off and root rot diseases caused by *Pythium aphanidermatum* on garden balsam. p. 146.

PMRA 1098465 Martinez, C., A. Bourassa, G. Roy and P. Bussières. 2005. Efficacy of PRO-MIX with Subtilex against black leg diseases caused by *Pythium ultimum* on geranium. p. 122.

PMRA 1098466 Martinez, C., A. Bourassa, G. Roy and P. Bussières. 2005. Phytotoxicity of PRO-MIX with Subtilex on sweet pepper. p. 92.

PMRA 1098467 Martinez, C., A. Bourassa, G. Roy. and P. Bussières. 2005. Phytotoxicity of PRO-MIX with Subtilex on tomato. p. 79.

PMRA 1098468 Martinez, C., A. Bourassa, G. Roy and P. Bussières. 2005. Phytotoxicity of PRO-MIX with Subtilex on cucumber. p. 83.

PMRA 1098469 Martinez, C., A. Bourassa, G. Roy and P. Bussières. 2005. Phytotoxicity of PRO-MIX with Subtilex on garden balsam. p. 79.

PMRA 1098470 Martinez, C., A. Bourassa, G. Roy and P. Bussières. 2005. Phytotoxicity of PRO-MIX with Subtilex on celosia. p.78.

PMRA 1098471 Martinez, C., A. Bourassa, G. Roy and P. Bussières. 2005. Phytotoxicity of PRO-MIX with Subtilex on geranium. p. 78.

PMRA 1098473 Letter from Becker Underwood regarding tank-mixing of Subtilex (*Bacillus subtilis* strain MBI 600) with chemical fungicides. p. 6.

PMRA 1098476 Contribution to integrated pest management strategies and practices. p. 4.

PMRA 1098411 Waiver requested for Pro-Mix HP with Biofungicide efficacy results. Premier Horticulture. p. 47.

PMRA 1098513 Waiver requested for Pro-Mix PGX with Biofungicide efficacy results. Premier Horticulture. p. 54.

PMRA 1098558 Waiver requested for Pro-Mix TA with Biofungicide efficacy results. Premier Horticulture. p. 54.

Renseignements additionnels examinés

a) Publications

2.0 Méthodes d'analyse (en anglais seulement)

PMRA 1326535 Banerjee, P.C. 1977. Lytic effects of mycobacillin and its derivatives on erythrocytes. *Antimicrob. Agents Chemother.* **12**:124–125.

PMRA 1326536 De Lucca, A.J. and T.J. Walsh. 2000. Antifungal peptides: Origin, activity and therapeutic potential. *Rev. Iberoam. Micol.* **17**:116–120.

PMRA 1326537 Katz, E. and A.L. Demain. 1977. The peptide antibiotics of *Bacillus*: Chemistry, biogenesis, and possible functions. *Bacteriol. Rev.* **41**:449–474.

PMRA 1326538 Leclère, V., M. Béchet, A. Adam, J.-S. Guez, B. Wathelet, M. Ongena, P. Thonart, F. Gancel, M. Chollet-Imbert and P. Jacques. 2005. Mycosubtilin overproduction by *Bacillus subtilis* BBG100 enhances the organisms' antagonistic and biocontrol activities. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:4577–4584.

PMRA 1326539 Rodrigues, L., I.M. Banat, J. Teixeira and R. Oliveira. 2006. Biosurfactants: Potential applications in medicine. *J. Antimicrob. Chemother.* 57:609–618.